

Nye parasitter fra gamle fisk

Eve Zeyl, Paula Marcotegui, Philip D. Harris, Tor A. Bakke, Lutz Bachmann

Eve M. L. Zeyl (f. 1976)
PhD, Universitetet i Oslo (UiO) i 2010. Midlertidig ansatt ved Seksjon for konservering og forskningsteknikk, Naturhistorisk museum, UiO.

Paula Marcotegui (f. 1978)
Ph.D, University of La Plata, Argentina i 2011. Prosjektfinansiert «Yggdrasil» gjesteforsker ved Seksjon for forskning og samlinger 2011–2012, Naturhistorisk museum, UiO.

Philip D. Harris (f. 1958)
Ph.D, Westfield College, London, i 1982. Senior lekturer ved University of Nottingham, Storbritannia. Fast ansatt professor i parasitologi ved Naturhistorisk museum, UiO, i 2009. Leder for Helminthamlingen, Seksjon for forskning og samlinger, Naturhistorisk museum, UiO.

Tor A. Bakke (f. 1943)
Fast ansatt ved Zoologisk museum, UiO, 1973. Dr.philos. samme sted 1982, professor i zoologi fra 1993. Leder for Malakologisk samling, Seksjon for forskning og samlinger, Naturhistorisk museum, UiO.

Lutz Bachmann (f. 1959)
Diplom biolog i 1986, Dr. rer. nat. i genetikk ved Universitetet i Tübingen, Tyskland, i 1990. Fast ansatt professor i molekylær systematikk ved Naturhistorisk museum, UiO, i 2000. Leder for Krepssdyrsamlingen, Seksjon for forskning og samlinger, Naturhistorisk museum, UiO.

De store samlingene av preserverte dyr og skjeletter er de naturhistoriske museenes fundament. Driften av disse samlingene medfører imidlertid høye kostnader, og spørsmålet blir da: Er de naturhistoriske samlingene berettiget i dagens verden? Våre undersøkelser viser at fiskesamlingen ved Naturhistorisk museum, UiO, er et skattekammer for å øke vår kunnskap om artsmangfoldet av fiskeparasitter, i dette tilfelle haptormer i slekten *Gyrodactylus*. Til sammen 3 til 4 *Gyrodactylus* arter på norske fiskearter har vi så langt i bare flyndrefamilien; der i hvert fall 2 av artene aldri før er påvist fra norske farvann. I tillegg påviste vi *Gyrodactylus* på 3 av de 29 utenlandske flyndrefisk-artene vi undersøkte i samlingen.

Museumssamlingene er de naturhistoriske museenes hjerte og sjel, deres «raison d'être». I disse samlingene finnes millioner av godt kuraterte objekter og naturprøver som er samlet inn gjennom århundrer fra hele verden av generasjoner av forskere og andre naturinteresserte. For de fleste objekter medfølger det også viktig informasjon, kringinformasjon, om når og hvor arten ble innsamlet, hvorledes de ble fiksert, preservert og behandlet, informasjoner som kan benyttes for nærmere studier og modelleringer av artenes sprednings- og utbredelsehistorie. Spesielt sentralt i de naturhistoriske samlingene er det såkalte typemateriale, det materialet forfatteren av en art benyttet da arten ble opprinnelig beskrevet i litteraturen. Slikt typemateriale er sentralt som referansemateriale ved beskrivelser av det en tror

er nye arter innenfor samme slekten. Andre former for materiale i samlingene er beleggsmateriale fra taksonomisk forskning og referansemateriale fra økologisk forskning, alt for senere å kunne foreta kontroll og revideringer av artsbestemmelsene.

De fleste biologer er samstemmige i at de naturhistoriske samlinger er av meget stor betydning for vitenskapen og den videre kunnskapsproduksjonen. Typemateriale er ifølge den berømte biologen Robert May «*the bricks that build the house of biology*». Likevel, føler mange kuratorer av naturhistoriske samlinger eller generelt sett, mange biologer, at det er vanskelig å forklare publikum hvorfor påstanden om betydningen av slike samlinger, er riktig. Oppbygningen og lagringen, vedlikeholdet og kurateringen av de naturhistoriske samlingene medfører

høye kostnader. Spørsmålet blir da: Er de naturhistoriske samlingene berettiget i dagens verden, og er de også en nyttig investering for framtiden?

Et pågående forskningsprosjekt ved Naturhistorisk museum (NHM), Universitetet i Oslo, bruker vi de naturhistoriske samlingene ikke bare for å dokumentere biodiversiteten, men de er samtidig et skattekammer for utvidet kunnskap om artene, deres forekomst og utbredelse. Det setter oss i stand til å oppdage nye arter for vitenskapen og arter som aldri før er observert i Norge, og på den måten bidrar vi til å fylle kunnskapshullene og oppnå målsettingen av en omfattende kartlegging av norsk biodiversitet og de historiske utviklingene og forandringene i mangfoldet.

Vi ønsker med dette å gi et eksempel på en spesiell bruk av samlingsmateriale som viser dets betydning på et felt ikke mange opprinnelig tenkte på. Ved NHM finnes det en stor, vell kuratert, fiskesamling som omfatter og dokumenterer bokstavelig talt alle fiskearter som er påvist i Norge. I tillegg er mange fiskearter fra utenlandske farvann også registrert i denne samlingen. Dette materiale av fisk ble først og fremst innsamlet for å dokumentere biodiversiteten, den geografiske utbredelsen og den morfologiske variasjonen av fisk i norske farvann, både ferskvann og ved kysten. I dag gjenspeiler samlingen den store entusiasmen som kuratorene ved fiskesamlingen og generasjoner av andre forskere og naturinteresserte har bidratt med for å bygge opp denne naturhistoriske dokumentasjonen av biodiversiteten for fremtiden.

Parasitter på fisk i fiskesamlingen

Det som i første øyeblikk kan virke overraskende, men ikke desto mer spennende, er at når fiskemateriale ble innsamlet har forskere samtidig også tatt vare på fiskenes parasitter, både ekto- og endoparasittene. Det medførte at vi i dag kan nytte høvet og undersøke ikke bare fisken, men også biodiversiteten i fiskenes parasitter gjennom historisk tid. Det gir en unik innsikt og kunnskap om disse infeksjose organismene og en viktig kunnskapsbase for de forandringer som fryktes i en verden som tilsynelatende vil gjennomgå store klimatiske forandringer.

Fiskeparasitter tiltrekker seg ikke vanligvis stor offentlig oppmerksomhet, bortsett fra dem som infiserer de mest økonomisk viktige fiskene som laksefisker. De mest nærliggende parasittene vi da tenker på er fiskelusa på oppdrettslaksen i havet og *Gyrodactylus salaris* på villaksen i ferskvann. Spesielt *G. salaris* som er en ektoparasitt på laksen og ble introdusert til Norge i 1970-årene gjennom transport av fisk fra utenlandske oppdrettsanlegg til den norske lakseindustrien, har forårsaket omfattende økonomiske tap og skader for både lokalsamfunnene og laksestammene i de 48 infiserte elvene i Norge.

Selv om det har blitt satt i gang omfattende og meget kostbare programmer for å bekjempe parasitten, er flere vassdrag fremdeles infisert. For å kvitte seg med parasitten blir infiserte elver vanligvis behandlet med giften Rotenon, tiltak som er meget kontroversielle siden giften virker uten forskjell mot alle fisk og de fleste virvelløse dyr som puster med gjeller.

Disse fiskeparasittene i slekten *Gyrodactylus* tilhører klassen hap-

tormark (Monogenea) i dyrerekken flatmark (Platyhelminthes). De fleste artene er veldig små, bare ca 0,5 mm lange og de lever generelt ektoparasitiske på fiskehuden eller gjellene. Artene i slekten *Gyrodactylus* forekommer ikke bare på laksefisk, men med få unntak, mer eller mindre på alle fiskearter.

Parasitter i slekten *Gyrodactylus*

Gyrodactylus er ikke bare skadelige parasitter, de viser også mange spennende biologiske særegenheter. En del arter i familien som forekommer i Sør-Amerika, legger egg mens de fleste andre arter føder levende unger, dvs. de er vivipare. Men da på en spesiell måte, kalt hypervivipari. Det vil si at før embryoet er utviklet og fødes, utvikler det seg et nytt individ inni dette igjen, slik at individet som fødes er gravid og umiddelbar klar til å føde. Derfor betegnes *Gyrodactylus* ofte som «russisk dukke». Det medfører at antall individer på en fisk etter infeksjonen, kan øke meget raskt og derfor utgjøre en helsemessig trussel for fisken. Ikke minst da noen fiskearter er meget mottagelig for *Gyro-*

dactylus, lik den norske Atlantisk laks for *G. salaris*. *Gyrodactylus* artene er også ofte meget vertsspesifikke.

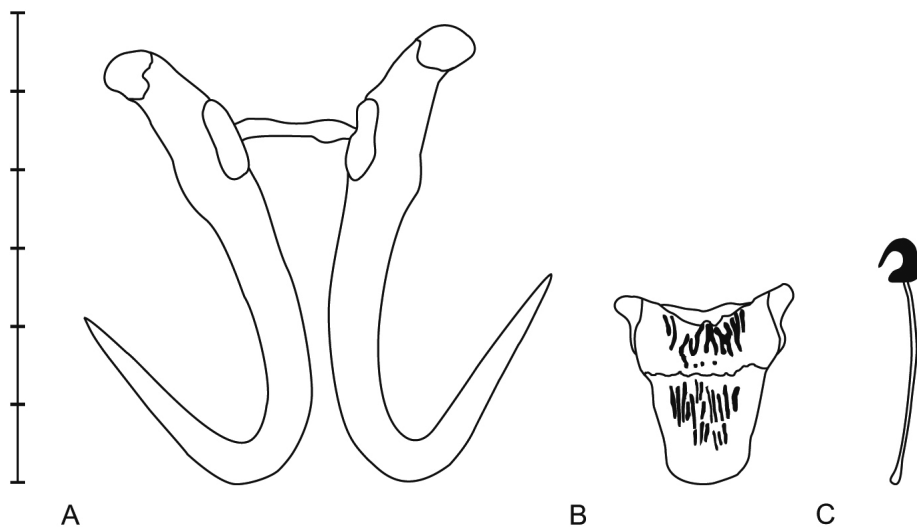
Men de fleste *Gyrodactylus* artene forekommer bare i et forholdsvis begrenset antall på vertsfiskene, og blir derfor sjelden oppdaget. Likevel, slekten *Gyrodactylus* har en overraskende stor artsdiversitet. Så langt er det påvist noe over 450 arter i slekten, men hvis vi antar at det finnes på hver fiskeart minst én spesifisk *Gyrodactylus* art, så medfører det at det kan kanskje finnes ca 25 000 *Gyrodactylus* arter i verden i dag. For mange biologer er slekten nesten ukjent så det er ikke særlig overraskende at fram til i dag er forholdsvis få arter kjent for vitenskapen. Spørsmålet er, skal vi bry oss om de ca 95 prosent av *Gyrodactylus* arter vi ikke kjenner? Jo det bør vi, ikke minst da de tilhører biodiversiteten og har stor betydning i nesten alle akvatiske økosystemer ikke minst da de infiserer de yngste fiskestadiene og kan påvirke både vertenes diversitet, utbredelse og stabiliteten av økosystemene. God kunnskap om parasittens diversitet er et viktig element i forståelsen av det økologiske nettverket.

Tabell 1

Det norske pleuronectid materialet i fiskesamlingen ved NHM og *Gyrodactylus* parasittene som ble registrert på dem.

| Norsk navn | Latinsk navn | Antall fisk (undersøkt) | <i>Gyrodactylus</i> registrert | Antall fisk innsamlet under prosjektet | <i>Gyrodactylus</i> registrert |
|-------------|-------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--|--------------------------------|
| Sandflyndre | <i>Limanda limanda</i> | 64 (6) | ja | | |
| Skrubbe | <i>Platichthys flesus</i> | 85 (1) | ja | 12 | ja |
| Rødspette | <i>Pleuronectes platessa</i> | 95 (2) | ja | 8 | ja |
| Lomre | <i>Microstomus kitt</i> | 27 (3) | nei | | |
| Smørflyndre | <i>Glyptocephalus cynoglossus</i> | 43 (12) | nei | | |
| Kveite | <i>Hippoglossus hippoglossus</i> | 8 (1) | nei | | |
| Gapeflyndre | <i>Hippoglossoides platessoides</i> | 119 (19) | nei | | |
| Blåkveite | <i>Reinhardtius hippoglossoides</i> | 9 (ingen*) | | | |

* Blåkveite materialet som er listet i samlingens journal, er sannsynligvis tapt.



Figur 1
Bakre festeorgan (opisthaptor) av *Gyrodactylus flesi*. Opisthaptoren hos gyrodactylider har flere harde strukturer som benyttes til å feste seg på vertsfisken. Etter preparering for mikroskopisk undersøkelse, kan vi studere utseendet og måle størrelsen på ankrene (A), den ventrale broen (B), og marginalhakene (C). Den dorsale broen benyttes ikke taksonomisk. Størrelse og formen på disse strukturene er karakteristiske for *Gyrodactylus* artene. Målestokkens enheter: 10 μ m.

Ved NHM har vi nylig oppstartet et prosjekt for kartlegging av biodiversiteten i slekten *Gyrodactylus* gjennom parasittologiske undersøkelser av fiskene i fiskesamlingen. Prosjektet er støttet av Artsprosjektet (www.artsdatabanken.no/artPage.aspx?m=7), administrert av Artsdatabanken (www.artsdatabanken.no). Artsprosjektet har som målsetting å utarbeide en omfattende liste over den norske biodiversiteten. Her ønsker vi å presentere prosjektet gjennom undersøkelsene av flatfisk i flyndrefamilien (Pleuronectidae) da det var den første fiskefamilien som ble gjenstand for en omfattende undersøkelse.

I NHMs fiskesamling finnes det omtrent 500 fisk som omfatter ca. 40 arter flyndrefisk. I følge referanseboken *Aschehougs store fiskebok* skrevet av NHMs tidligere kurator for fiskesamlingen, 1. amanuensis Per Pethon (boken finnes online ved Norsk nasjonalbibliotek: www.nb.no) omfatter det materiale fra 8 pleuronectid arter som forekommer i norske farvann

(Tabell 1). Det eldste materialet er fra 1878 og gjennom vårt prosjekt ble i tillegg et materiale fra ulike lokaliteter i Oslofjord-området registrert inn i samlingen.

Hvordan oppdage og artsbestemme *Gyrodactylus* parasitter?

Siden *Gyrodactylus* parasittene er veldig små, må fiskens hud og gjeller undersøkes meget nøyaktig ved hjelp av binokular med moderat forstørrelse (12–25 ganger). Påviste parasitter må deretter prepareres for mer omfattende mikroskopiske analyser. De viktigste morfologiske strukturer for artsbestemmelse er knyttet til parasittens bakre festeorgan (opisthaptor) (Figur 1), og da de harde strukturene som omfatter ankere og kroker som parasitten benytter for å feste seg på vertsfisken. Men ofte er forskjellene mellom artene minimale, og i tillegg er det et stort problem å skille variasjon innen arten fra de diagnostiske forskjellene mellom artene. For å få en pålitelig artsbestemmelse må de harde

strukturene i opisthaptorene prepareres på spesielle måter før den mikroskopiske analysen. Deretter foretas sofistikerte målinger av disse harde strukturene som må statistisk analyseres før en artsbestemmelse er mulig gjennom sammenligninger med andre beskrivelser av kjente arter ved siden av studier av selve typematerialet. Slik publisert taksonomisk informasjon kan hentes direkte fra litteraturen eller fra databaser som for eksempel GyroDb, en fritt tilgjengelige database på nettet (<http://www.gyrodb.net>).

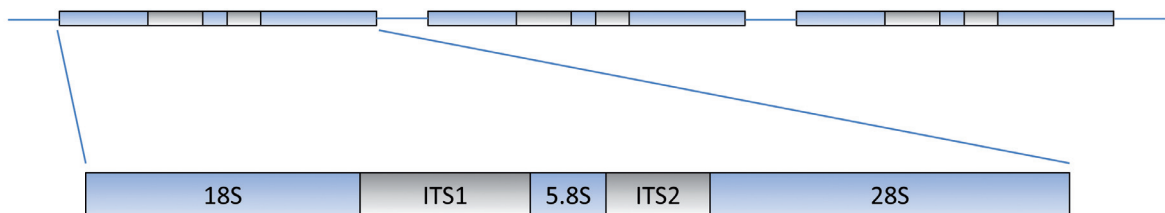
I de senere årene er også molekylær metodikk utviklet for artsbestemmelse av gyrodactylider. Ofte er slike genetiske metoder faktisk mindre arbeidskrevende enn mikroskopiske undersøkelser, særlig når det gjelder dårlig kjente arter der det er vanskelig å finne referansemateriale. Men også for molekylære metoder er parasittens lille størrelse en krevende utfordring. Etter preparering av opisthaptorenes hardstrukturer for morfologiske undersøkelser, er det lite igjen av resten av dyret for ekstraksjon av DNA. Mest brukt for molekylær artsbestemmelse er sekvensene av deler av det ribosomale gen-clusteret (Figur 2). Etter sekvensering av disse kjernegenomiske markører, kan vi søke i databaser som for eksempel GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) for å se om

tilsvarende sekvenser allerede er kjente innen slekten *Gyrodactylus*. Ribosomale gensekvenser er vanligvis identisk (selv om det finnes unntak) for alle parasitter av samme art, men forskjellig for ulike arter. Molekylær artsbestemmelse er basert på slike sekvenssammenligninger. En stor fordel som molekylære metoder har, er at sekvensene varierer ikke i henhold til miljøparametre i motsetning til parasittens morfologi som er avhengig av det omgivende miljø, både det abiotiske og biotiske miljøet. Artsbestemmelser basert på molekylær metodikk gir derfor mer objektiv informasjon.

***Gyrodactylus* på flatfisk i flyndrefamilien**

Flatfisk fra norske farvann som tilhører flyndrefamilien er godt representert i NHMs fiskesamling, og alle artene med unntak av blåkveite, er representert med mange individer (Tabell 1). Fra NHMs fiskesamling undersøkte vi 44 fiskeindivider fra sju norske pleuronectid arter. Den eldste prøven var én gapeflyndre innsamlet i 1878 sør for Spitsbergen (Figur 3). I tillegg til dette samlingsmaterialet, undersøkte vi også 20 fisk innsamlet i Oslofjord området i 2011. Til sammen fant vi 3 (muligens 4) *Gyrodactylus* arter på sandflyndre, skrubbe og rødspette. For skrubbe og rødspette fikk vi bekreftet forekomsten

Figur 2
Ribosomale gener i kjernegenomet har en konserverert struktur. De 18S, 5.8S og 28S genene er atskilt av de ikke-kodende «Internal Transcribed Spacer» (ITS) 1 og 2. ITS sekvensene kan vanligvis brukes for å diagnostisere nært relaterte *Gyrodactylus* arter. RNA genene forekommer i tallrike kopier i genomet. Disse gen gruppene er arrangert etter hverandre.





av gyrodactylider gjennom undersøkelser av nylig innsamlet fisk fra Oslofjorden. For flatfisk i flyndrefamilien kunne prosjektet registrere i hvert fall 2 (kanskje 3) *Gyrodactylus* arter som aldri før er påvist på fisk fra norske farvann.

I tillegg undersøkte vi 58 fisk fra 29 pleuronectid arter som har utbredelsesområder utenfor Norge. De eldste fisk (*Hypsopsetta guttulata*, *Platichthys stellatus* og *Psetichthys melanostictus*) ble i 1870 innsamlet i nærheten av San Francisco, USA (Figur 3). Det bør nevnes at utenlandske pleuronectider ikke er fullstendig representert i NHMs fis-

kesamlingen; totalt omfatter materialet 69 fisk. Det er ikke særlig overraskende siden innsamlingen av norske fiskearter er prioritert; mange utenlandske prøver er først og fremst tilfeldige innsamlinger eller donasjoner til NHM.

Likevel var det overraskende at *Gyrodactylus* fantes kun på 3 av de 29 utenlandske pleuronectid artene i samlingen. Disse er stillehavsflyndre (*Limanda aspera*), Arktis flyndre (*Liopsetta glacialis*) og gapeflyndre (*Hippoglossoides platessoides*). En forklaring kan være at gyrodactylider er ikke særlig vanlig på fisk i flyndre-

Figur 3
Fiskesamlingen ved NHM, Universitetet i Oslo. De eldste flyndrefisk undersøkt i vårt prosjekt var én *Hypsopsetta guttulata* innsamlet i 1870 i nærheten av San Francisco, USA, og én gapeflyndre (*Hippoglossoides platessoides*) innsamlet i 1878 sør av Spitsbergen.

familien. En annen forklaring som er mer sannsynlig er at fisk i flyndrefamilien er forholdsvis store og kanskje er blitt vasket og rensert før de havnet i samlingen. Flere individer hadde også ingen rester av mukus igjen på huden. Vaskingen av fisk var muligens et forsøk på å forbedre deres utseende slik at de ble bedre egnet som materiale for utstillinger, den tid materialets utstillingsfunksjon var den viktigste. Så selv om det ble gjort med de beste intensjoner, så er det ufordelaktig for vårt prosjekt mht. å påvise ektoparasitter på fiskene.

Selv om prosjektet har møtt slike uforutsette problemer, har vi likevel dokumentert gjennom undersøkelser av flyndrefisk fra NHMs fiske-samlinger, at materiale fra de vitenskapelige samlinger av fisk faktisk kan benyttes for påvisning av andre og nye arter. I framtiden skal vi utvide studiet til også å gjennomgå fisk fra andre fiskefamilier som forekommer i Norge. Gjennom undersøkelser forventer vi å få en omfattende oversikt over den norske *Gyrodactylus* faunaen uten arbeids- og kostnadskrevende feltarbeid. Vi har også planer å inkludere i større grad, molekylære analyser i prosjektet. Selv om dette er krevende siden gamle prøver gjennomgående har degradert DNA. Men uansett, våre naturhistoriske samlinger kan med god grunn anses som et genetisk arkiv og skattekammer over flere arter enn hva en tidligere trodde.

Videre lesning

- Bachmann, L & Bakke, TA (2007) Laksedreperen *Gyrodactylus salaris* er 50 år, men kjenner vi jubilanten? *Naturen* 131: 115–123.
- Bakke, TA, Cable, J & Harris, PD (2007) The biology of gyrodactylid monogeneans: the «Russian Doll-killers». In: *Advances of Parasitology* (Baker, J.R., Muller, R. and Rollinson, D., eds.) 64, 161–376.
- Harris, PD, Shinn, AP, Cable, J, Bakke, TA & Bron, JE (2008) *GyroDb*: gyrodactylid monogeneans on the web. *Trends in Parasitology*, 24: 109–111.
- Harris, PD, Bachmann, L & Bakke, TA (2011) The Parasites and Pathogens of the Atlantic Salmon: Lessons from *Gyrodactylus salaris*, In Ø Aas; S Einum; A Klemetsen & Skurdal (ed.), *Atlantic Salmon Ecology*. Blackwell Publishing. ISBN 978-1-4051-9769-4. 9 .s 221–252.
- Hudson, PJ, Dobson, AP & Lafferty KD (2006) Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology and Evolution* 21: 381–385.
- Pethon, P (2005) *Aschehougs store fiskebok*. Oslo. ISBN 978-8-2764-3403-3.
- Zietara MS & Lumme, J (2002) Speciation by host switch and adaptive radiation in a fish parasite genus *Gyrodactylus* (Monogenea: Gyrodactylidae). *Evolution* 56: 2445–2458.