

Vilken ny kunskap ger aDNA-analyser om vegetationsutvecklingen i Nordeuropa under och efter Weichselistiden?

Beatrix Cordes

Examensarbeten i geologi vid Lunds universitet,
kandidatarbete, nr 650
(15 hp/ECTS credits)



Geologiska institutionen
Lunds universitet
2023

Vilken ny kunskap ger aDNA-analyser om vegetationsutvecklingen i Nordeuropa under och efter Weichsel-istiden?

Kandidatarbete
Beatrix Cordes

Geologiska institutionen
Lunds universitet
2023

Innehållsförteckning

1	Introduktion	7
2	Syfte och frågeställningar	7
3	Bakgrund	7
3.1	aDNA	7
3.2	aDNA-studiers historik	7
3.3	Analysmetoder	7
3.3.1	PCR	8
3.3.2	Shotgun sequencing	8
3.3.3	Metabarcoding	8
3.3.4	Next Generation Sequencing (NGS)	8
3.3.4.1	Standard shotgun (NGS)	9
3.3.4.2	Capture and NGS	9
3.4	Bevaring av aDNA och äldsta bevarade aDNA	9
3.4.1	Bevaringsförutsättningar för aDNA	9
3.4.2	De äldsta bevarade autentiska aDNA-sekvenserna	9
3.5	Hur kan aDNA användas?	9
4	Metoder	10
5	Resultat	10
5.1	Motivering till val av artiklar	10
5.2	Glacial survival of boreal trees in northern Scandinavia (Parducci et al. 2012b)	10
5.3	Lake Store Finnsjøen – a key for understanding Lateglacial/early Holocene vegetation and ice sheet dynamics in the central Scandes Mountains (Paus et al. 2015)	11
5.4	Holocene floristic diversity and richness in northeast Norway revealed by sedimentary ancient DNA (sedaDNA) and pollen (Clarke et al. 2019)	15
5.5	Last Glacial Maximum environmental conditions at Andøya, northern Norway; evidence for a northern ice-edge ecological “hotspot” (Alsos et al. 2020)	18
6	Diskussion	22
6.1	Skillnader i antal och typ av taxa dokumenterade genom aDNA jämfört med pollen och växtmakrofossil	22
6.2	aDNA-analysers bidrag till kunskapen om vegetationsutvecklingen i Skandinavien under och efter Weichsel-istiden	24
6.3	För- och nackdelar med att använda aDNA-analys för att studera vegetationsutveckling jämfört med pollen- och makrofossilanalys	26
6.4	Framtida möjligheter till ökad kunskap om vegetationsutvecklingen i Skandinavien under och efter Weichsel-istiden baserad på aDNA-analys	27
7	Slutsatser	27
8	Tackord	27
9	Referenser	28

Omslagsbild: Bilden visar Evagraven som är belägen i Ruvallen som befinner sig i närheten av Messlingen, Härjedalens kommun. Foto: Lovisa Gleisner.

Vilken ny kunskap ger aDNA-analyser om vegetationsutvecklingen i Nordeuropa under och efter Weichsel-istiden?

BEATRIX CORDES

Cordes, B., 2023: Vilken ny kunskap ger aDNA-analyser om vegetationsutvecklingen i Nordeuropa under och efter Weichsel-istiden? *Examensarbeten i geologi vid Lunds universitet*, Nr. 650, 31 sid. 15 hp.

Sammanfattning: Under de senaste 30 åren har en ny metod för att få information om tidigare ekosystem utvecklats, nämligen att analysera gammalt ("ancient") DNA (aDNA). Denna forskningsgren är fortfarande ung men har redan hittat många områden inom vilka den kan tillämpas. Inom paleoekologin finns det två huvudsakliga ändamål med aDNA-analyser; att kartlägga en arts hela genom, samt att bestämma antal taxa och vilka taxa som finns bevarade som aDNA i prover från olika typer av sediment. Beroende på ändamålet, skiljer sig analysmetoderna något. Genom att analysera växters aDNA i sjösediment har det gjorts nya upptäckter om vilka växtarter som fanns, till exempel under den kallaste delen av den senaste istiden (LGM) i norra Europa. Genom att analysera fyra artiklar som behandlar studier av aDNA hämtat från sjösediment, har jag sett närmare på hur studier av aDNA har bidragit till förståelsen för vegetationsutvecklingen i Nordeuropa. Generellt i de fyra studierna kan aDNA-analyser inte identifiera lika många taxa som pollenanalys kan, men i stället är metoden bättre på att identifiera arter snarare än bara släkten och familjer (högre taxonomisk upplösning). Dessutom kan aDNA-analys generellt identifiera fler taxa än makrofossilanalys. Dessa förhållanden är dock beroende av tafonomiska processer. Studier av aDNA har gett oss nya insikter om vilka växter som fanns i Nordeuropa under LGM, den seneglaciala perioden och efter den senaste istiden (Weichsel). Med aDNA-analys har det identifierats nya taxa inom följande växtgrupper: vattenväxter, mossor, träd och buskar samt alger. Dessa nya upptäckter har visat att deglaciationen och klimatet i de områden som fungerade som nordliga växtrefugier under LGM var mer komplex än man tidigare trott och att ytterligare studier krävs för att få en djupare förståelse av hur vegetationen förändrades i Nordeuropa under och efter Weichsel-istiden.

Nyckelord: aDNA, ancient DNA, vegetationshistoria, vegetationsförändring, PCR, NGS, Nordeuropa, next generation sequencing, Weichselistiden.

Handledare: Mats Rundgren

Ämnesinriktning: Kvärtärgeologi

Beatrix Cordes, Geologiska institutionen, Lunds universitet, Sölvegatan 12, 223 62 Lund, Sverige.

E-post: beatrix.cordes@gmail.com

What new knowledge about the vegetation development in Northern Europe during, and after, the Weichselian glacial can be gained from analyzing aDNA?

BEATRIX CORDES

Cordes, B., 2023: What new knowledge about the vegetation development in Northern Europe during, and after, the Weichselian glacial can be gained from analyzing aDNA? *Dissertations in Geology at Lund University*, No. 650, 31 pp. 15 hp (15 ECTS credits) .

Abstract: During the last 30 years a new method for obtaining information about past ecosystems has been developed, namely to analyse old (“ancient”) DNA (aDNA). This research field is still young but has already found many areas within which it can be applied. In palaeoecology, there are two main purposes with aDNA analyses; to map the entire genome of a species, and to determine the number of taxa, and which taxa, that are preserved as aDNA in samples from different types of sediments. Depending on the purpose of the analysis, the analytical methods differ slightly. By analysing plant aDNA in lake sediments there have been new discoveries about which plant species were present, for example, during the coldest part of the last glacial period (LGM) in Northern Europe. By analyzing four articles dealing with studies of aDNA which was gathered from lacustrine sediments, I have taken a closer look at how studies of aDNA have contributed to the understanding of the vegetation development in Northern Europe. Generally in the four studies, aDNA analysis cannot identify as many taxa as pollen analysis can do, but instead the method is better at identifying species rather than just genera or families (higher taxonomic resolution). In addition, aDNA analysis can overall identify more taxa than macrofossil analysis. These conditions are, however, dependent on taphonomic processes. Studies of aDNA have provided us with new insights into which plants were present in Northern Europe during the LGM, the late-glacial period and after the last glacial period (the Weichselian). With aDNA analysis, the following plant groups have been identified: water plants, mosses, trees and bushes, and algae. These new discoveries have shown that the deglaciation and the climate in northern refugia was more complex than previously believed and that further studies are required to reach a deeper understanding of how the vegetation changed in Northern Europe during and after the Weichselian glacial.

Keywords: aDNA, ancient DNA, vegetation history, vegetation change, PCR, NGS, Northern Europe, next generation sequencing, the Weichselian glacial.

Supervisor: Mats Rundgren

Subject: Quaternary Geology

*Beatrix Cordes, Department of Geology, Lund University, Sölvegatan 12, SE-223 62 Lund, Sweden.
E-mail: beatrix.cordes@gmail.com*

1 Introduktion

Ett av de naturliga fenomen som reglerar utbredningen och sammansättningen av vegetationen på mellan- och höga latituder är förekomsten av inlandsisar, eftersom tillväxten och reträtten av dessa under istider och mellanistider påverkar vilka arter som kan överleva där (Abbott & Brochmann 2003). Den vegetationsutveckling som sker efter en isavsmältning är även beroende på de storskaliga och gradvisa klimatförändringar som ligger bakom de kvartära istidscyklerna.

Undersökningar av bland annat pollen i sedimentlagerföljder har under lång tid använts för att undersöka hur vegetationen har förändrats i samband med isens rörelser (Popescu et al. 2021). Problemet med analyser av pollen är den låga taxonomiska precisionen då det ibland är svårt att artbestämma pollen. Identifikation kan därför ibland bara göras till släkte eller familj (Mander & Punyasena 2014). Växtmakrofossilanalys, d.v.s. analys av makroskopiska växtrester såsom blad och fröer, är den andra metoden som traditionellt har använts i vegetationshistoriska studier. Denna metod har en generellt högre taxonomisk precision men är i stället begränsad av att makroskopiska växtrester har en begränsad spridningsförmåga samt att växtrester enklare bryts ner än pollen (Birks 2007). För att komplettera den paleoekologiska data som baserats på pollen- och växtmakrofossilanalyser, och för att ta fram data med hög taxonomisk precision, har en relativt ny metod börjat användas allt mer. Metoden som används är analys av gammalt ("ancient") DNA, det vill säga aDNA, som under de senaste 30 åren har fått en allt större roll inom forskning, exempelvis arkeologi (Vural 2009; Humphrey et al. 2019; Vai et al. 2020), paleoekologi (Willerslev et al. 2014), människors hälsa och sjukdomar (Adler et al. 2013; Metcalf et al. 2014) samt människans utveckling och paleogenetik (Green et al. 2010; Meyer et al. 2012). aDNA-analyser används redan som komplement till pollenstudier för att försöka få en djupare förståelse för hur vegetationen förändrats på platser runt om i världen (Langeveld et al. 2018; Clarke et al. 2019; Popescu et al. 2021).

2 Syfte och frågeställningar

Syftet med denna litteraturstudie är att tydliggöra hur aDNA-data från sjösediment har påverkat den traditionella, på pollen- och växtmakrofossilanalys baserade, förståelsen av vegetationsutvecklingen i norra Europa, och särskilt i Skandinavien, under senglacial tid och holocen. Studien ska bland annat besvara följande specifika frågeställningar:

- Skiljer sig antalet taxa dokumenterade genom aDNA-analys från antalet taxa representerade av pollen och växtmakrofossil i samma lagerföljder?
- Är vissa arter eller typer av växter lättare att identifiera genom aDNA-analys jämfört med pollen- och växtmakrofossilanalys?
- Har analyser av aDNA gett en djupare förståelse för vilka växter som överlevde i nordeuropeiska refugier under Weichsel-istiden och den efterföljande vegetationsutvecklingen i Skandinavien?

3 Bakgrund

3.1 aDNA

aDNA definieras som nedbrutet, fragmenterat och kemiskt modifierat DNA som extraherats från historiska, arkeologiska samt fossila lämningar (Rawlence et al. 2014). Termen *seDNA* är förkortning för "sedimentary DNA" och är aDNA som bevarats i och sedan extraherats ur sediment, oavsett typen av sediment (Edwards 2020). Termen "environmental DNA" (eDNA) blir mer vanligt förekommande inom forskningsvärlden (Beng & Corlett 2020) och representerar det DNA som härstammar från hår, skinn, urin, avföring, könsceller, eller kvarlevor från organismer som är mer eller mindre nedbrutna i vatten, jord eller sediment (Taberlet et al. 2012; Thomsen & Willerslev 2015), det vill säga att denna term inkluderar all DNA oavsett ålder. En mer heltäckande term för aDNA som fungerar som en paraplyterm för många olika ursprung är termen "PalEnDNA" (Rawlence et al. 2014). Termen är en förkortning för "palaeoenvironmental DNA" vilket innefattar all aDNA som härstammar från nedbrutet genetiskt material från paleomiljöprover (Rawlence et al. 2014).

Beroende på vilken typ av organism som undersöks analyserar man olika typer av aDNA. När djur studeras används vanligen aDNA från mitokondrier (mtDNA), och när växter studeras används aDNA från kloroplaster (cDNA) (Rawlence et al. 2014). Anledningen till att mtDNA och cDNA studeras är att antalet tillgängliga DNA-strängar i organellerna är många fler än de som finns i cellkärnan, som i bästa fall endast har två DNA-strängar tillgängliga (Rawlence et al. 2014; Brown & Barnes 2015). Informationen som går att hämta från mtDNA är däremot begränsad (Brown & Barnes 2015) exempelvis på grund av att mtDNA är utslutande nedärvt från modern (Hutchison et al. 1974; Giles et al. 1980; Case & Wallace 1981). Data från mtDNA kan ej besvara frågor rörande genombfunktioner eller komplexa populationsförändringar som exempelvis migration vilket kräver DNA från cellkärnan (Brown & Barnes 2015).

3.2 aDNA-studiers historik

De första studierna av aDNA publicerades av tre grupper runt 1990 där grupperna hade lyckats identifiera aDNA från gamla ben (Hagelberg et al. 1989; Horai et al. 1989; Hänni et al. 1990). Dessa studier öppnade upp forskningsfältet för aDNA och möjliga användningsområden inom bland annat paleoekologi och arkeologi då de visade på möjligheten att få mer information från arkeologiska platser (Brown & Barnes 2015). Innan dessa studier publicerades ansågs DNA som för instabilt, förutom under särskilda förhållanden, för att kunna bevaras en längre period efter att organismen dött (Brown & Barnes 2015). Synen på aDNA gick från att det var näst intill omöjligt att hitta bevarat till att aDNA gick att finna överallt. Detta synsätt, kombinerat med en minskad oro över nukleinsyrans instabilitet, fortsatte till dess att en forskargrupp påstått sig identifiera DNA-sekvenser från 80 miljoner (Ma) gamla benfragment från krita som identifierats möjligen tillhöra ett flertal dinosaurier genom både geologiska bevis samt genom att studera benfragmenten i fråga (Woodward et al. 1994).

1995 hölls den tredje internationella aDNA konferensen i Oxford där problematiken med kontaminering inom aDNA-analyser blev ett centralt diskussionsämne. Diskussionerna på konferensen resulterade i att tidigare publicerade artiklar, exempelvis studien om 80 Ma gamla benfragment av dinosaurier (Woodward et al. 1994), granskades på nytt och utsattes för mer kritik angående kontaminering. Att beakta förekomsten av DNA som inte hör till den eller de organismer som man studerar är viktigt i aDNA-studier då prover enkelt kan kontamineras på ett flertal sätt från det att provet tas till att analysresultatet är färdigt (Capo et al. 2021). Efter konferensen påbörjades en process inom forskarvärlden med att ta fram kriterier för aDNA-analyser vars syfte var att minimera risken för kontaminering (Brown & Barnes 2015). De kriterier som sattes för att förbättra forskningen inom aDNA bestod av nio autenticitetskriterier (Poinar & Cooper 2000) som hade tre syften; 1) att förbättra arbetsprocessen för att minimera kontaminering av modernt DNA vid extraktion av prover och vid PCR-steget, 2) att kunna identifiera när kontaminering skett genom att jämföra proverna med en kontrollgrupp samt att repetera analysen för prover vars resultat är viktiga, och 3) att kunna bedöma om den generella bevaringen av provet är förenlig med bevaringen av aDNA (Poinar & Cooper 2000; Brown & Barnes 2015). Kriterierna gjorde att forskning inom aDNA blev mer tillförlitlig, men bevisen för att aDNA i studier som följde dessa kriterier inte var kontaminerat av modernt DNA var fortfarande omständliga (Brown & Barnes 2015). Osäkerheten bakom aDNA-analyserna resulterade i att forskare började uppmana andra att vara mer självkritiska mot sina resultat i stället för att följa en checklista (Gilbert et al. 2005). Detta var särskilt viktigt vid forskning på mänskligt aDNA då det var svårare att påvisa att provet var fritt från kontamination än vid forskning kring andra typer av aDNA (Gilbert et al. 2005; Brown & Barnes 2015).

3.3 Analysmetoder

3.3.1 PCR

Polymerase chain reaction (PCR) är en grundläggande metod inom DNA-analyser som används när man vill urskilja taxa från varandra baserat på särskilda primära baspar (Ficetola et al. 2015). Efter att de särskilda primära basparen hittats skapas genetiska mallar av sekvenserna i provet, och därefter tillsätts DNA-polymeras för att öka antalet sekvenser i provet så att provet kan analyseras. Efter att sekvenserna i provet amplifierats är förhållandet mellan de olika sekvenserna detsamma i de flesta fall. Undantag kan dock förekomma där sällsynta sekvenser får ett underskott eller överskott av duplicerade sekvenser (Ficetola et al. 2015). Det är vid detta steg i analysen som den största risken för förvrängning av data föreligger då sällsynta och viktiga sekvenser kan undgå att bli amplifierade (Ficetola et al. 2015). För att minska risken för detta repeteras PCR-metoden flera gånger på ett flertal olika prover (Edwards 2020). Det är även svårt att direkt koppla förekomsten av olika DNA-sekvenser i ett prov till den faktiska fördelningen av vegetationens biomassa (Edwards 2020).

En stor nackdel med analysen är den stora risken för kontaminering då det endast krävs en kort sekvens av modernt DNA som råkar amplifieras för att PCR-metoden ska ge ett falskt positivt resultat (Brown & Barnes 2015). Provet kan kontamineras vid ett flertal tillfällen: vid extrahering från avsättningsmiljön samt under det laborativa arbetet då modernt DNA finns överallt (Brown & Barnes 2015).

3.3.2 Shotgun sequencing

Shotgun sequencing (SS) är en metod som möjliggör identifiering av taxa från olika organismklasser samtidigt. Analysen är bred samt medför en mindre risk för dataförvrängning vid det laborativa arbetet jämfört med "metabarcoding" (se nedan) då inget genetiskt material prioriteras över något annat vid dupliceringen av det genetiska materialet (Edwards 2020). Metoden baseras på att kopior av fragmenterat DNA styckas upp i mindre sekvenser (därutav namnet på metoden) som sedan sätts samman genom att en dator analyserar en ände av de styckade sekvenserna för att leta efter överlappande baspar (Staden 1979; Anderson 1981).

SS medför en stor utmaning vid den biogenetiska identifikationen då aDNA-sekvenserna jämförs med ett globalt sett inkomplett DNA-arkiv och p.g.a. det enorma antalet möjliga matchningar med olika taxa (Edwards 2020). Förutsättningarna vid identifikationen medför en stor risk att taxa utelämnas och undgår att identifieras då DNA-arkivet är inkomplett (Edwards 2020). En nackdel med metoden är att analysen kan resultera i data som visar taxa som omöjligt kunnat befinna sig på platsen som provet hämtats från. Detta kan ske då en DNA-sekvens som analyseras i provet är inkluderad i flera taxas genetiska information. En god paleoekologisk och/eller biogeografisk kunskap krävs därför för att kunna undvika dessa missvisande resultat (Edwards 2020).

3.3.3 Metabarcoding

Metabarcoding är en analysmetod som gör det möjligt att extrahera detaljerad information från exempelvis växters DNA. Analysmetoden baseras på att en kort DNA-sekvens på ca 10-150 baspar (metabarcoding) från växters kloroplast eller cellkärnor analyseras (Taberlet et al. 2018). Anledningen till att sekvenserna som undersöks inte är längre än omkring 150 baspar är att längre sekvenser bryts ner relativt snabbt när de extraherats från cellen på grund av hydrolyserande enzymer (Coissac et al. 2007). För att kunna sekvensera de utvalda sekvenserna och identifiera taxa måste sekvenserna först amplifieras genom PCR vilket medför risk för kontaminering. Sekvensen bör vara distinkt på släkt- eller artnivå för att kunna identifiera intressanta taxa, vilket sker genom att jämföra de utvalda sekvenserna med en metabarcoding-databas för den studerade geografiska regionen (Coissac et al. 2007; Taberlet et al. 2018).

3.3.4 Next Generation Sequencing (NGS)

Det finns ett antal problem förknippade med att analysera aDNA genom PCR som inte finns hos NGS (Brown & Barnes 2015); 1) För varje sektion av ett genom som studeras måste nya PCR-repetitioner ge-

nomföras vilket begränsar längden till en gen eller mindre per aDNA-prov, 2) en del av aDNA-sekvensen som ska undersökas genom PCR måste dessutom vara känd genom kartläggning av DNA från moderna ättlingar, 3) PCR-metoden fungerar dåligt med fragmenterat DNA som har <100 nukleotider (molekylär byggesten) vilket förekommer hos aDNA (Meyer et al. 2012; Brown & Barnes 2015). NGS-metoderna har lyckats att kompensera för många av PCR-processens brister. Då PCR fortfarande utgör en del av många NGS-metoder så kvarstår risken för kontaminering av modernt DNA vilket är svårt att helt undkomma oavsett analysmetod (Brown & Barnes 2015).

3.3.4.1 Standard shotgun NGS

Metoden gör det möjligt att sekvensera miljontals individuella korta DNA-strängar från ett prov vilket betyder att alla DNA-molekyler analyseras (Brown & Barnes 2015). Eftersom analysen ger mycket data är det ibland möjligt att återskapa en arts hela genom. Även fragmenterat aDNA kan analyseras då metoden utgår från att korta sekvenser används. Dessutom kräver sekvenseringen ingen tidigare kunskap om en arts gener eller genom (Brown & Barnes 2015). Detta är möjligt med hjälp av bioinformationstekniker och processen kan underlättas om sekvensen för genomet redan är känd eftersom det då kan agera som en guide/mall (Bris et al. 2018). Tekniken baseras på att en dator sammanställer bitar av sekvenser som har överlappande baspar vilket resulterar i att en kontinuerlig sekvens av en DNA-molekyl kan byggas upp (Brown & Barnes 2015; Bris et al. 2018). Om utdöda taxa analyseras kan besläktade arters genom agera som guide men ju mer avlägset besläktad guiden är desto svårare är det för genomet att sammanställas från fragmenten och i vissa fall finns ingen lämplig guide från det moderna DNA-arkivet (Shapiro & Hofreiter 2014).

3.3.4.2 Capture and NGS

Till skillnad från shotgun NGS där fragmenterat DNA sekvenseras slumpmässigt baseras denna metod på att fragmenterat DNA av intresse sorteras bort från resterande DNA-fragment för att sedan anrikas genom PCR och hybridiseringsmetoder (García-García et al. 2016). Det finns ett flertal hybridiseringsmetoder, vilka delas in i solida och flytande hybridiseringsmetoder (García-García et al. 2016). Eftersom metoden använder PCR är risken för kontaminering fortfarande ett problem. Efter sorteringen och anrikningen analyseras DNA-fragmenten genom NGS. Beroende på vilken metod för hybridisering som använts i samband med NGS så kan känsligheten för capture & NGS överstiga PCR vilket gör det möjligt att analysera kortare DNA-sekvenser (Shapiro & Hofreiter 2010).

3.4 Bevaring av aDNA och äldsta bevarade aDNA

3.4.1 Bevaringsförutsättningar för aDNA

För att sakta ner den hastighet med vilken aDNA bryts ner krävs det att provet bevaras under särskilda förhållanden. Ideala förhållanden för bevarande av aDNA är en miljö som är torr, kall, anoxisk (syrefri), och har ett pH nära 7 (neutralt) (Brown & Barnes 2015; Edwards 2020). Det finns undantag från dessa ideala förhållan-

den då det exempelvis har varit möjligt att sekvensera mtDNA från en 400 tusen år gammal hominid som bevarats i grottsystemet Atapuerca i norra Spanien (Meyer et al. 2014). Det som utmärker detta grottsystem är att det har en relativt konstant temperatur på omkring 10,6 °C samt att det är mycket fuktigt, vilket vanligtvis inte bidrar till en god bevaring av aDNA (Meyer et al. 2014).

Vid bevaringen av aDNA i sediment finns fler faktorer att ta hänsyn till jämfört med den terrestra bevaringen i exempelvis grottor. En av de faktorer som begränsar tolkningen av data från sedaDNA är den begränsade kunskapen om tafonomiska processer i sjöar, t.ex. bevaring, omlagring och transport (Capo et al. 2021). Andra faktorer att ta hänsyn till är hur det genetiska materialet har transporterats till sedimentet, nedbrytning och adsorption av DNA-molekylen vid gränzytan mellan vatten och sediment samt i sedimentet, eventuell tidig diagenes hos DNA-molekylen vid begravning i sedimentet samt hur länge DNA-molekylen kan bevaras där (Capo et al. 2021).

3.4.2 De äldsta autentiska aDNA-sekvenserna

Den äldsta autentiska aDNA-sekvensen som hittats från växter identifierades i ett fruset sedimentprov med en ålder på 2–1,5 miljoner år från permafrosten i nordöstra Sibirien (Willerslev et al. 2003). aDNA-sekvenserna i studien har en ålder på 400-300 tusen år och kommer från kloroplaster av träd, buskar, gräs och blomväxter (Willerslev et al. 2003). Tio år efter publikationen publicerades en ny studie där man hade sekvenserat aDNA från en häst som hade en ålder på 780–560 tusen år (Orlando et al. 2013), vilket blev den äldsta kända autentiskt sekvenserade aDNA-strängen dittills. Rekordet för äldsta sekvenserade aDNA förblev oförändrat fram till att en studie om mammut-DNA publicerades 2021. I studien lyckades forskarna sekvensera aDNA från en mammut, från nordöstra Sibirien, vars ålder uppskattades till 1,65–1,1 miljoner år (Van Der Valk et al. 2021).

3.5 Hur kan aDNA användas?

aDNA används ofta inom paleoekologin för att studera växter men även svampar, bakterier samt vissa däggdjur och ibland andra ryggradsdjur. Den paleoekologiska användningen diskuteras vidare i kapitel 5. Utöver paleoekologi kan aDNA-analyser även användas inom exempelvis arkeologin (Edwards 2020). Ett jordprov, med en ålder på 600–1000 år, taget från en fornnordisk gård på Grönland kunde exempelvis fastställa genom aDNA-analyser när gården övergavs och började användas igen. Detta kunde beskrivas med hjälp av aDNA från nötkreatur, lamm och getter då avsaknaden av aDNA från dessa djur tolkas som att gården var övergiven (Hebsgaard et al. 2009). Studier av aDNA har även använts för att undersöka mumier. En ny studie om Egyptens forna farao Tutankhamen lyckades kartlägga hans och släktingars genom för att bekräfta deras släktskap samt undersöka om Tutankhamen hade en kronisk sjukdom (Gad et al. 2021).

4 Metoder

Information om studier som baserats på pollen, växtmakrofossil och aDNA hämtades primärt från artiklar publicerade under de senaste ca 10 åren. Annan information om vegetationsutvecklingen samt utvecklingen av studier av aDNA hämtades från äldre källor. Studien fokuserar primärt på studier som analyserat aDNA från sjösediment. Handledaren bidrog initialt med ett omfång av artiklar som utgångspunkt för att påbörja förståelsen för området. Vid behov, för att komplettera dessa artiklar, söktes även andra artiklar upp från sidor som exempelvis Web of Science och PubMed. För att söka artiklar användes exempelvis termer som: "sedimentary DNA", "Scandinavia", "Norway", "pollen and aDNA", "aDNA analysis methods", "Holocene" med flera. Om de artiklar som lästes hade passande källor studerades även originalkällan för informationen för att säkerställa att det som beskrivits i artikeln stämde överens med originalkällan. Om det var fallet, användes även originalkällan som källa i detta arbete.

5 Resultat

5.1 Motivering till val av artiklar

Fyra artiklar presenteras kortfattat nedan i den ordning de publicerades (d.v.s. äldsta artikeln först). Artiklarna valdes med hänsyn till frågeställningarna och följande kriterier: 1) publicerade inom de senaste 10 åren, 2) baserade på studier som huvudsakligen utförts inom Skandinavien, 3) baserade på studier som utförts inom olika delar av Skandinavien samt 4) analysmetoden för aDNA varierar i metod och kombination av metoder. Artiklarna presenteras först med en kort introduktion av undersökningsområdet, geologin samt provtagningsmediet. Därefter presenteras vilka analysmetoder som har använts på proverna, exempelvis dateringsmetod, makro-/mikrofossilanalys samt vilken analysmetod för aDNA. Till sist presenteras en genomgång av antal taxa identifierade av pollen, makro-/mikrofossil och aDNA samt hur dessa taxa har grupperats.

5.2 Glacial survival of boreal trees in northern Scandinavia (Parducci et al. 2012b)

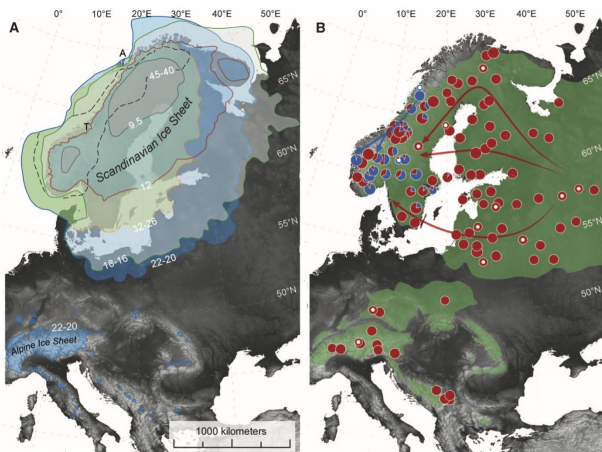
Studien fokuserar på undersökningar av granens och tallens migration i Skandinavien baserade på prover av träd och sjösediment, där sedimenten analyserades för

pollen samt aDNA. De prover av *Picea abies* (gran) som användes härstammar från Skandinavien. Det fanns två grupper av gran som agerade som referensmaterial, en grupp från södra gränsen för granens utbredningsområde och den andra gruppen från nordligare breddgrader som Sibirien, Ryssland samt Québec, Kanada. Träd som agerade som sydliga kontroller för gran härstammar från Tyskland, Schweiz, Serbien, Italien samt Österrike. Frön av *Picea glauca* (vit gran) från Québec, Kanada samt *Picea obovata* (sibirisk gran) från Uralbergen, Ryssland agerade som referensmaterial för de nordligare breddgraderna. Alla individer av *Pinus sylvestris* (tall) som provtogs härstammar från centrala Sverige. Inga träd provtogs på ön Andøya i Norge då granarna där planterats inom de senaste 200 åren. Däremot togs lakustrina prover för att analysera aDNA för att undersöka om tall migrerade till området tidigt. Detta gjordes då Andøya är en plats som upplevde en tidig deglaciation och var ett troligt refugium under Late Glacial Maximum (LGM).

Sjösediment provtogs från sjön Rundtjørna i landskapet Trøndelag samt den sydvästra delen av sjön Endletvatn på ön Andøya (Figur 1). Borrkärnorna från båda platser analyserades för sedaDNA, makrofossil samt pollen. Borrkärnorna daterades med ¹⁴C-metoden; sedimentet från sjöarna Endletvatn och Rundtjørna har en maxålder på 26 tusen respektive omkring 10 tusen år.

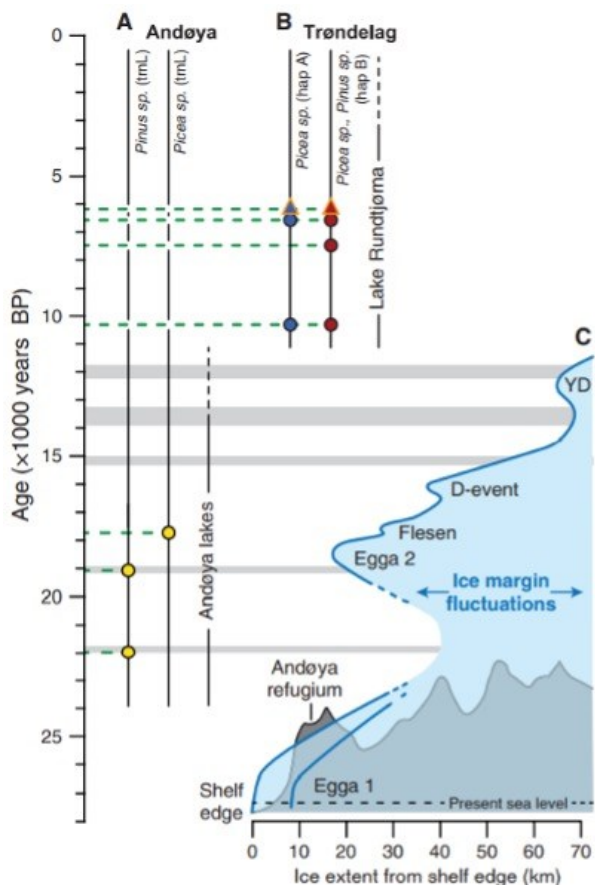
Analysen av DNA genomfördes både på prov från moderna populationer av gran och tall samt från borrkärnorna. aDNA analyserades genom att amplifiera fragmenterat DNA genom PCR. Fragmenten sekvenserades och sammanlänkades sedan genom metabarcoding. Det är osannolikt att aDNA förflyttats vertikalt i sedimenten genom transport med vatten då sjösedimenten konstant är mättade. Utöver mätnadsgraden är även organiskt material fastbundet i sedimentet vilket ytterligare förhindrar aDNA från att perkolera ner i sedimentlagerföljden.

Två grupper av granar kunde identifieras; haplotyp A och B. Haplotyp A fanns uteslutande i Skandinavien med en ökande frekvens i västlig riktning. Haplotyp B verkade vara en föregångare till haplotyp A då DNA-sekvensen var mycket lik DNA-sekvensen hos haplotyp Bs systerarter *Picea glauca* och *Picea obovata*. För att bevisa att haplotyp A var lokalt förekommande analyserades sjösediment från Trøndelag och Andøya för aDNA. Analysen av sediment, sedaDNA, pollen och makrofossil visade även att haplotyp A sannolikt



Figur 1. (A) Rekonstruktion av de olika stadierna av den Skandinaviska inlandsisen mellan 45000 och 9500 år f.n. baserad på ett flertal källor. A markerar Andøya, och T markerar Trøndelag. (B). Geografisk fördelning av de två mitokondriella mh05-haplotyperna A (mörkblå cirklar) och B (mörkröda cirklar) hos *Picea abies* (gran). Storleken på cirkarna är proportionell mot storleken på populationen (cirklar med vita prickar indikerar populationer med $N < 10$). Pilarna visar föreslagna postglaciala förflyttningar av de två haplotyperna efter senaste istidsmaximum. Grön färg indikerar granens naturliga utbredning. Från Parducci et al. (2012a).

föregår LGM samt att haplotyp A spreds söderut från dessa refugier under och efter deglaciationen. Det äldsta aDNA från gran som identifierades från Trøndelag har en ålder på 10 300–6500 år före nutid (f.n.). I Andøya identifierades aDNA från *Pinus* sp. i sediment som hade en ålder på omkring 22–19,2 tusen år f.n. och *Picea* sp. från sediment med en ålder på omkring 17 000 år f.n. (Figur 2).



Figur 2. Förekomst av träd på Andøya (A) och Trøndelag (B) baserat på makrofossil, aDNA från sediment (cirklar) och pollendata (trianglar). (C) Inlandsisens rörelser vid Norges nordvästra kust 27–10 tusen år sedan. Isframstötten under LGM (Egga 1) expanderade bortom de undersökta sjöarna på Andøya. Möjlig plats för refugium är markerad. Horisontella grå linjer indikerar en rekonstruerad temperatur på +10°C. Från Parducci et al. (2012a).

5.3 Lake Store Finnsjøen – a key for understanding Lateglacial/early Holocene vegetation and ice sheet dynamics in the central Scandes Mountains (Paus et al. 2015)

Studien är gjord i området runt Dovre-sjöarna i den norska delen av Skanderna (Figur 3). När området studerats tidigare hittades fynd som tolkats som att området upplevde en tidig deglaciation under senglacial tid innan den kalla perioden Yngre Dryas (YD), vilket möjliggjorde en tidig invandring av vegetationen i området (Dahl et al. 1997; Paus et al. 2006; Bøe et al. 2007; Goehring et al. 2008; Paus et al. 2011; Paus et al. 2014).

Berggrunden i området består av ett flertal geologiska enheter som är del av Røros nappe-formationen och bergarterna vid sjön Store Finnsjøen består av grönskiffer, hornbländeamfibolit samt skiffer. Studien fokuserar på borrhälar med sjösediment som extraerats från sjön Store Finnsjøen vars data sedan jämfördes med data från tidigare studier av sjöarna Ristjøenna, Topptjøenna och Flåfattjøenna. Store Finnsjøen (1260 m.ö.h.) är belägen i närheten av och mellan sjöarna Ristjøenna (1253 m.ö.h.) och Topptjøenna (1316 m.ö.h.) samt 30 km ifrån sjön Flåfattjøenna (1110 m.ö.h.).

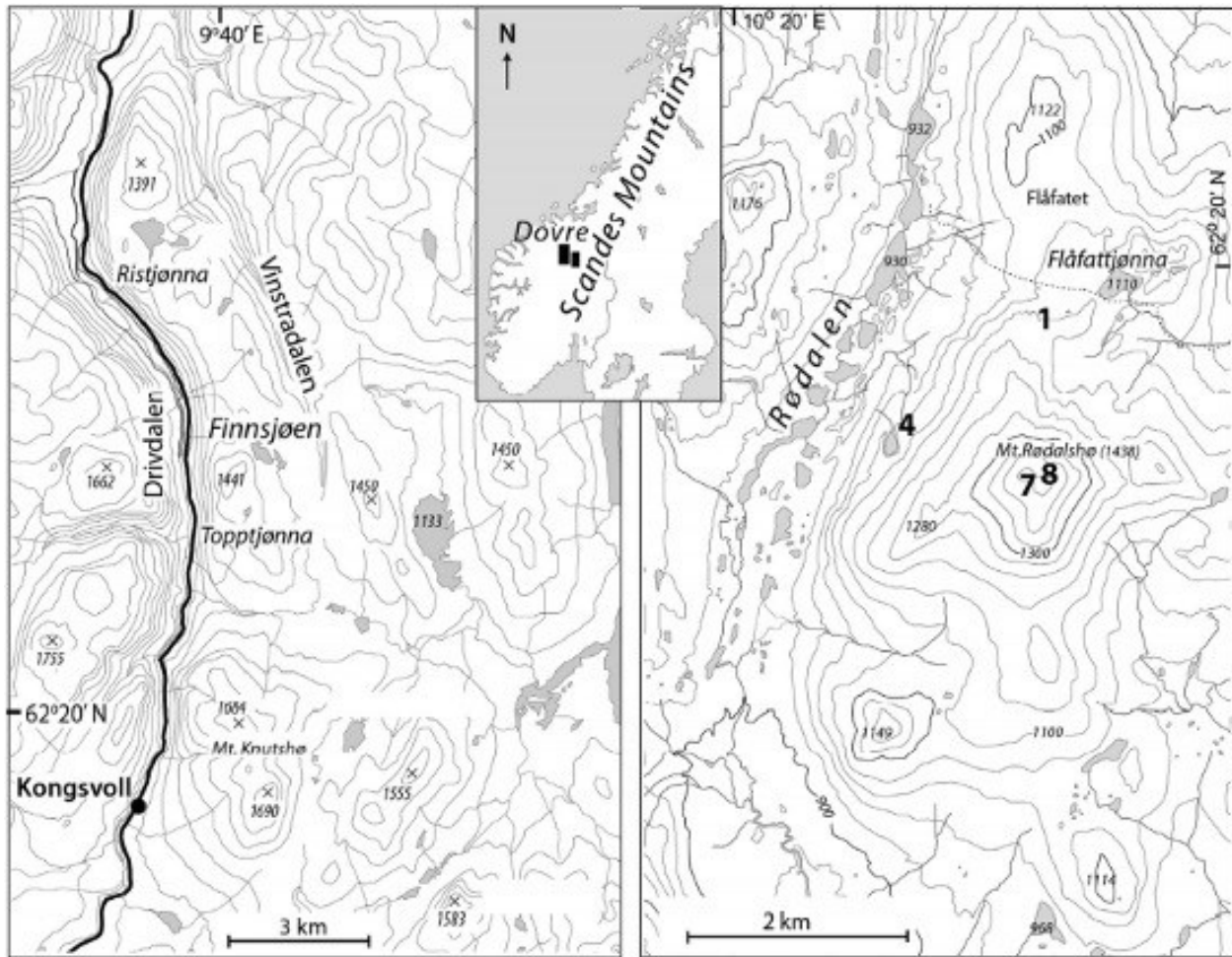
Borrhälan från Store Finnsjøen studerades okulärt och provtogs sedan för att analyseras för pollen, aDNA samt organisk halt genom glödförlust (LOI, loss on ignition). För att bestämma åldern på borrhälan daterades den med hjälp av C14-datering.

Proverna som togs från borrhälan för att genomföra pollenanalys behandlades med HCl samt KOH och centrifugerades sedan i vatten för att rena proverna från bland annat karbonater. Efter detta tillsattes Lycopodium-tabletter som möjliggjorde det att beräkna koncentration och influx hos pollen i proverna. Pollen identifierades med hjälp av referensmaterial. Pollendata behandlades statistiskt genom PCA och PR (palynological terrestrial richness) beräknades. Analysen av sedaDNA genomfördes med metabarcoding där endast sekvenser som hade en likhet på >95% mot referensarkivet samt hade >100 avläsningar användes vid resultatdelen och diskussionen.

Undersökningen av pollen och aDNA visade att området runt Dovresjöarna var isfritt mellan sen Yngre Dryas (YD), omkring 12 000 år före nutid, och tidig Holocen, ca 9 700 år före nutid. De fyra sjöarna berättar fyra olika historier om vegetationsutvecklingen i området (Figur 4).

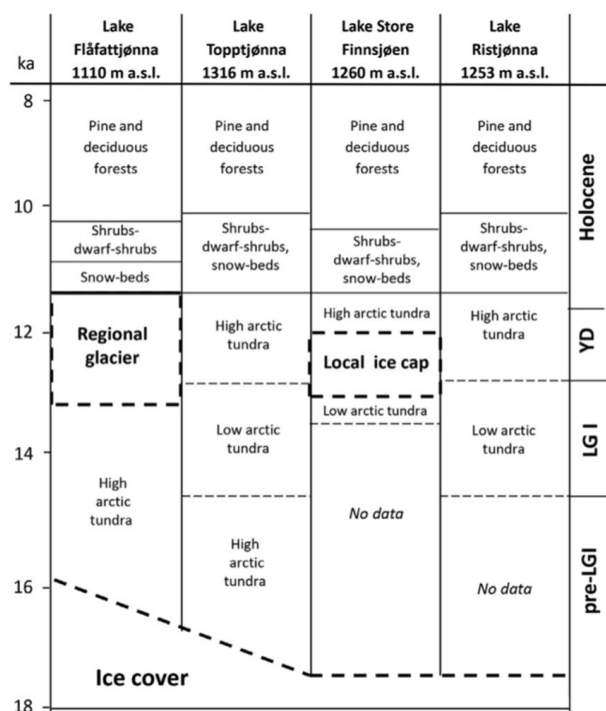
Den kontinuerliga sedimentlagerföljden från Ristjøenna visade att sjön hade isfria somrar mellan Last Glacial Interstadial (LGI, Bölling- Allerød) och tidig Holocen. De tre andra sjöarna var periodvis täckta av is, sjön Topptjøenna var konstant frusen under delar av YD, Finnsjøen hade ett lokalt istäcke under YD (som orsakade en hiatus på 800-900 år i sedimentet) och Flåfattjøenna var täckt av en regional glaciär mellan Allerød och tidig Holocen. Forskarna kom även fram till att sedimenten från sjöarna visar att det skett två deglaciationer i området; en vid pre-LGI och en vid sen YD/tidig Holocen vilket betyder att det skett en kraftig istillväxt under YD.

Analysen av pollen resulterade i att 94 terrestra taxa identifierades med varierande precision samt att



Figur 3. Karta över Sverige och Norge med Skanderna i centrum där Dovre-området är markerat med två rektanglar. (Vänster). En lokal topografisk karta med sjöarna Store Finnsjøen, Ristjønna och Topptjønna markerade. Tjock svart linje markerar floden Svone. Konturlinjerna har ett intervall på 100m. (Höger). En lokal topografisk karta med sjön Flåfattjønna markerad. Konturlinjerna har ett intervall på 40m. Från Paus et al. (2015).

14 taxa identifierades genom aDNA-analys med en taxonomisk precision mellan familj och artnivå. Information från aDNA-analyserna förbättrade den taxonomiska precisionen jämfört med data från pollen och kryptogamer i ett flertal fall. Av dem taxa som identifierades genom aDNA var 5 taxa träd och resterande 9 taxa örter och gräs (Tabell 1). Baserat på pollen identifierades 6 taxa som träd, 30 taxa till örter och gräs, 2 taxa var alger samt 7 taxa tillhörde buskar och dvärgbuskar (Figur 5).

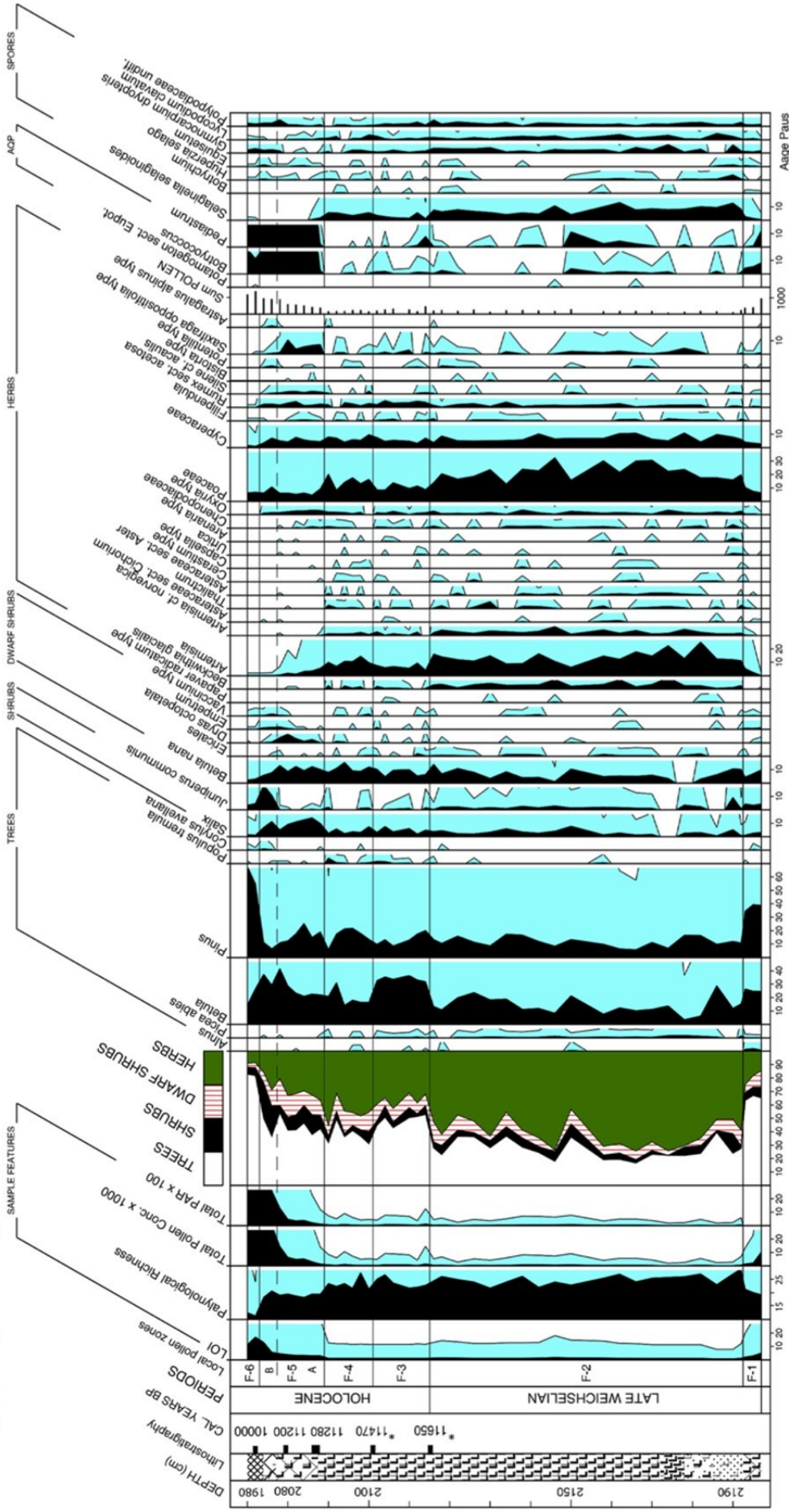


Figur 4. Sammanfattning av vegetationens och glaciärens dynamik under LG och tidig Holocen. Från Paus et al. (2015).

Tabell 1. Taxa identifierade genom sedaDNA-analyser från Store Finnsjøens sediment. 'Laboratory sample name' refererar till borrhpunkter (3, 4), borrhpunktssktioner (A, B), djup, samt laboratorienummer inom parentes. 'Depth (cm)' refererar till djupet under vattenytan i borrhpunkt 4, vilket är den lagerföljd som pollenanalyserades. Åldrarna (cal ka BP) för 'pollen assemblage zones' (paz) är noterade. Taxa presenteras i alfabetisk ordning. Från Paus et al. (2015).

Laboratory sample name	Depth (cm)	Paz and ages (cal ka BP)	Taxon (no. of reads)
F4B_1980__2(SL171)	1980	F-6 (9.7–10.3)	<i>Alchemilla</i> sp. (93,924) <i>Bartsia alpina</i> (23,200) <i>Dryas octopetala</i> (60,241) <i>Lycopodium</i> sp./ <i>Diphasiastrum</i> sp. (4723) Salicaceae (118,626)
F3B_1940__6(SL181)	1995–2000	F-6 (9.7–10.3)	<i>Dryas octopetala</i> (151,364) Salicaceae (207,524)
F4B_2000__1(SL158)	2000	F-6 (9.7–10.3)	<i>Quercus</i> sp. (80,059) Salicaceae (123,073)
F4C_2040__7(SL157)	2040	F-5b (10.3–10.7)	Arbutoideae (14,167) <i>Bartsia alpina</i> (18,329) <i>Bistorta vivipara</i> (29,035) <i>Dryas octopetala</i> (74,584) Salicaceae (151,825) <i>Splachnum</i> sp. (579) <i>Pinus sylvestris</i> (19,314)
F4C_2060__6(SL0168)	2060	F-5a (10.7–11.3)	<i>Dryas octopetala</i> (331,584) <i>Equisetum</i> sp. (1390) Salicaceae (198,024)
F4C_2080__5(SL156)	2080	F-5a (10.7–11.3)	Fagaceae (15,914) Salicaceae (20,660) <i>Saxifraga</i> sp. (79,756)
F3B_2020__3(SL178)	2130	F-2 (11.65–12)	Asteraceae (271,470)
F4C_2160__2(SL165)	2160	F-2 (11.65–12)	Asteraceae (138,343)

Store Fimnsjøen, Dovre, Sør-Trøndelag, 1260 m a.s.l.



Figur 5: Pollendiagram med tilhørende litostratigrafisk logg, borrhjup, åldrar, perioder, lokale pollenzoner og LOI. Från Paus et al. (2015).

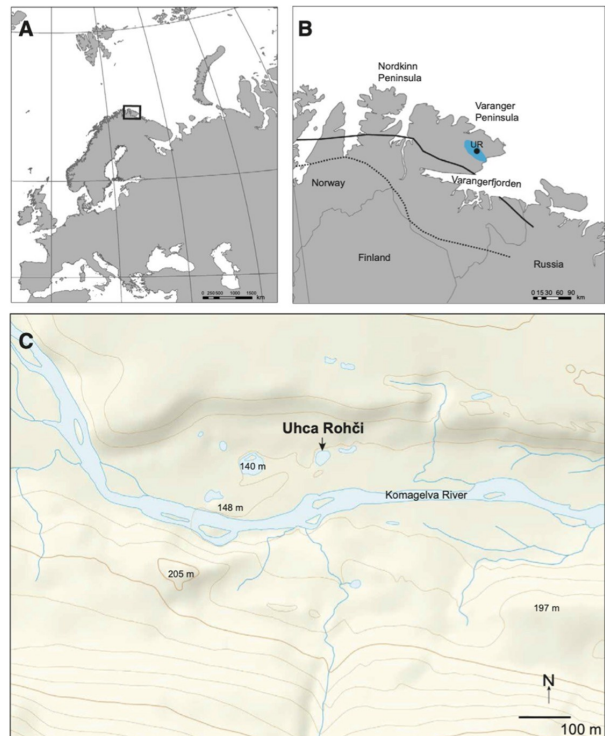
5.4 Holocene floristic diversity and richness in northeast Norway revealed by sedimentary ancient DNA (sedaDNA) and pollen (Clarke et al. 2019)

Den lokal där studien utfördes utgörs av en sjö utan officiellt namn på Varangerhalvön i nordöstra Finnmark, Norge (Figur 6). Sjön refereras till som UR efter "Uhca Rohci", som är samernas namn på en intilliggande flod. Områdets topografi består av en plåta med låg relief som ligger mellan 200-600 m.ö.h. Geologin är en blandning av höjdryggar av kambrisk kvartsit och sandsten samt dalar som eroderat ner till skiffer och lersten. Inlandsisen hade börjat retirera från Varangerhalvön för omkring 15 400 – 14 200 år sedan och området var helt isfritt för 13-12 tusen år sedan. Det är troligt att sjön UR fick fluvialt material transporterat till sig från uppströms i Komagdalen innan erosion orsakad av isostatisk höjning förändrade sedimentationsförhållandena i sen-holocen tid.

Borrkärnorna UR-1 och UR-2 daterades med 14C-metoden genom att använda AMS (Accelerator Mass Spectrometry) och analyserades sedan för pollen, sedaDNA, LOI, röntgendiffraktion (XRF) samt magnetism. aDNA analyserades genom metabarcoding. Alla prover och kontroller genomgick åtta repetitioner för att öka tillförlitligheten hos resultaten samt öka chansen att hitta DNA-fragment från mer sällsynta taxa. Proverna analyserades sedan genom NGS-metoder där endast de sekvenser som matchade 100% mot en taxon i referensbiblioteket behölls. Om en taxon identifierades <10 gånger under en PCR repetition ansågs taxonen som ej identifierad. Även de taxa som identifierades med en högre medeldetektningsnivå i de negativa kontrollerna eller i PCR-repetitionerna än vad som fanns i sedimentproverna togs bort.

Dateringen av borrkärnorna visade att UR-1 täckte perioden omkring 10 700-3600 år f.n. då kärnan UR-1 saknade det övre lagret av sediment som representerar åren 3600-nutid, vilket beräknats genom extrapolering. Borrkärnan UR-2 samlades in för att täcka perioden som saknades i UR-1. UR-2 daterades sedan till att täcka perioden 1433-15 år f.n.. Dateringen kunde bekräfta att UR-1 saknar det översta sedimentlagret och ingen data finns för perioden 3600-1433 år f.n.

Genom analys av aDNA kunde 118 taxa identifieras varav 41% identifierades till artnivå, 47% till släktnivå och 12% till familjnivå. Av de taxa som identifierades finns idag 44% i Komagdalen och 86% i Finnmark och på Kolahalvön. *Pinus* (tall) och *Salicaceae* (videväxter) kunde detekteras i nästan alla prover och uppvisade endast en variation i koncentration i de åtta PCR repetitionerna. Under perioden 3600-3300 sker en drastisk minskning i koncentrationen av sedaDNA från tall vilket verkar bero på en ökad förekomst av *Salix*. Analysen av sedaDNA visade även att vegetationen under holocen var dominerad av vedartade taxa som *Betula* (björk), *Empetrum* (kråkbär), *Vaccinium* spp (odon) och *Rhododendron tomentosum* (skvattram). *Pinus* och *Rhododendron tomentosum* växer däremot inte i området idag. Små dungar av tall finns omkring 50 km bort och enstaka träd finns vid Østervatnet på södra Varangerhalvön. De vanligaste terrestra örter som identifierades genom sedaDNA var

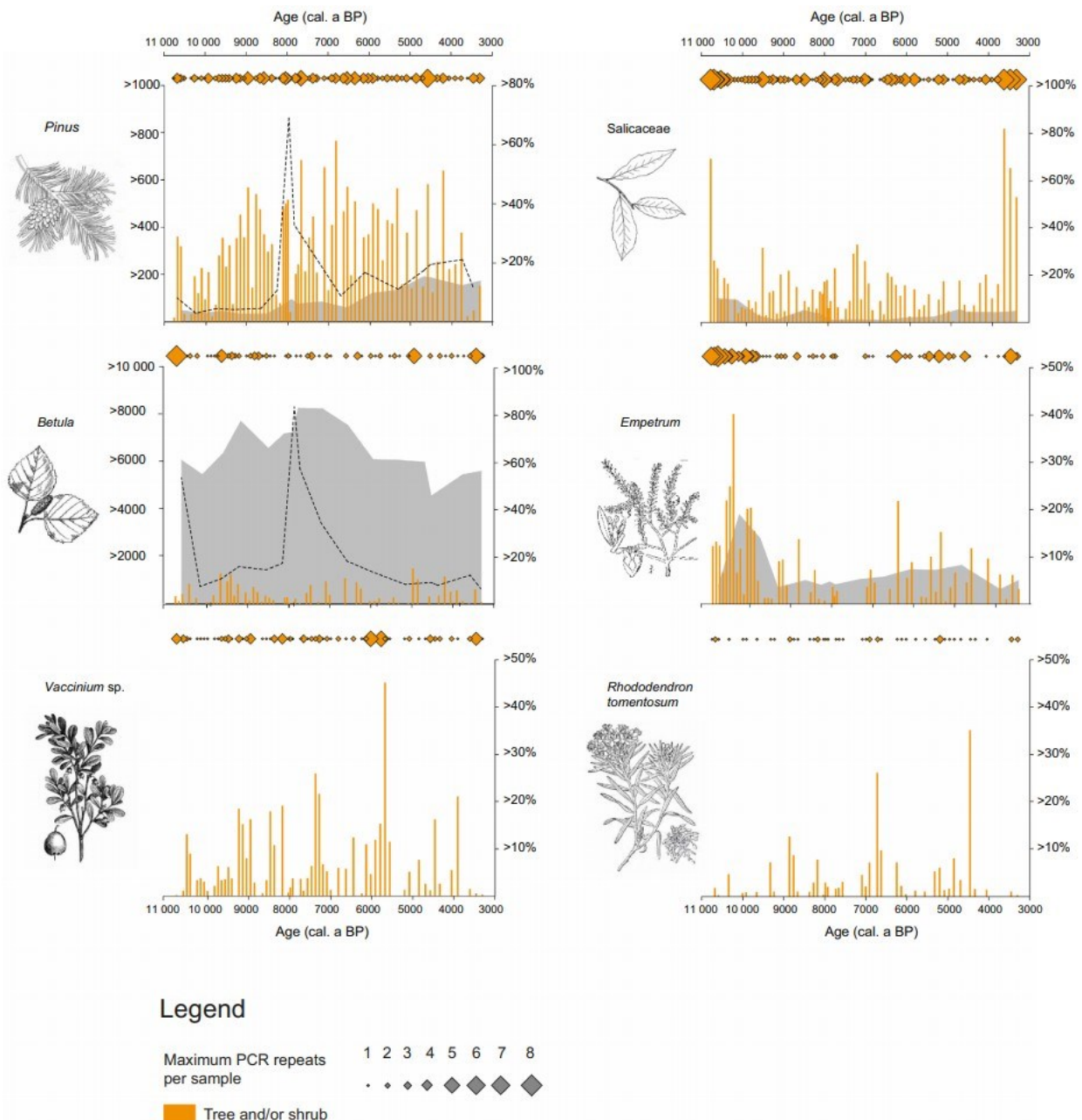


Figur 6. Studiens undersökningslokal. A: undersökningsområdets läge inom Skandinavien, B: Varangerhalvön och lokalens läge i norra Norge, C: terrängkarta över lokalen med lokala vattendrag. Från Clarke et al. (2019).

Bistorta vivipara (ormrot) följt av *Cakile* (marviol) och *Apiaceae* (flockblommiga växter). Dessa taxa finns fortfarande i området idag även om *Cakile* huvudsakligen växer vid kusten. Träd och höga buskar (ex. *Pinus*, *Betula* och *Salicaceae*) var den vanligaste gruppen av taxa som identifierades genom sedaDNA (50%). Terrestra örter motsvarade 23% och graminoider (gräs och gräslänkande växter, inklusive halvgräs och tågväxter) 12%. Även en del vattenväxter identifierades; *Limosella aquatica* (ävjebrodd), *Callitriche hermaphroditica* (höstlånke), *C. palustris* (smålånke), och *Potamogeton* (natar) varutav *Limosella aquatica* var vanligast följt av *Callitriche hermaphroditica*.

Från borrkärnorna kunde 39 taxa identifieras genom pollen (Figur 7). Av dessa pollen representerade *Betula* 65% av den totala pollenmängden på land (TLP). Från de identifierade taxa kunde 72% identifieras till släktnivå, 21% till familjnivå och 7% till artnivå.

Totalt identifierades 137 taxa från 64 familjer med någon eller båda metoderna men med varierande taxonomisk precision. 20 familjer identifierades gemensamt av både pollen och sedaDNA. Den taxonomiska precisionen var låg för pollen från exempelvis familjerna *Poaceae* (gräs), *Cyperaceae* (halvgräs) och *Caryophyllaceae* (nejlikväxter) medan sedaDNA kunde identifiera till släkt eller artnivå. Av de 39 taxa identifierade med pollen kunde 12 även identifieras genom sedaDNA. Träd och buskar är den dominerande gruppen för både pollen och sedaDNA, den enda skillnaden är vilka taxa som dominerar (Figur 8, 9). För pollen dominerar *Betula* genomsnittligt med 65% följt av *Pinus* (8%) och *Empetrum* (7%) medan i se-

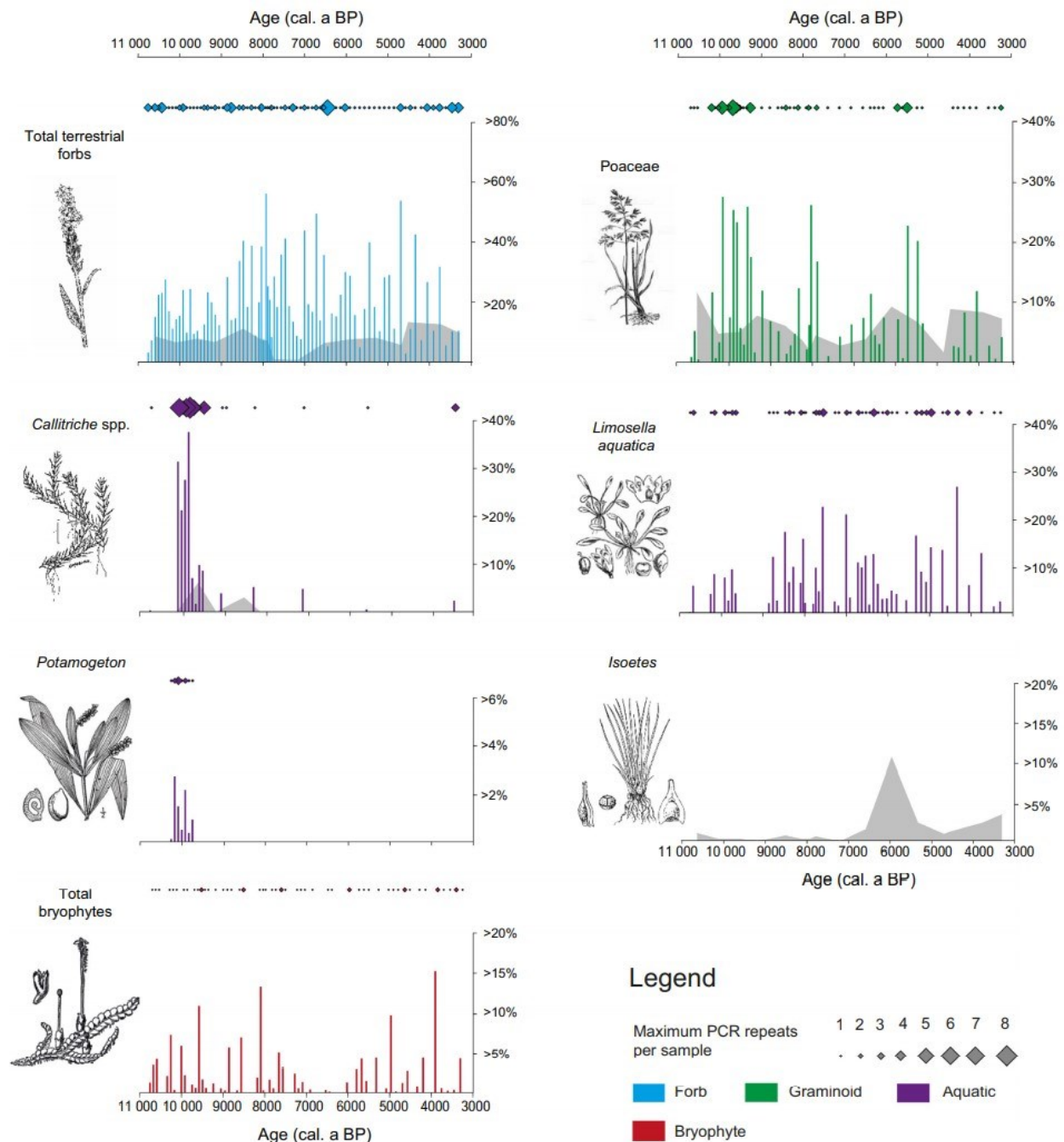


Figur 8. Pollen- och aDNA-diagram för träd och buskar. Från Clarke et al. (2018).

daDNA dominerar *Pinus* och *Salicaceae* med 21% respektive 20% av den totala DNA-identifieringen. På ett flertal ställen stämmer dessutom pollenarkivet och sedaDNA överens; 1) vid 10 700–9500 dominerar *Empetrum*, vilket syns i både pollen och sedaDNA, 2) mellan 5500–4500 finns inget sedaDNA för familjen *Poaceae* vilket sammanfaller mer en kort period av minskad koncentration av *Poaceae*-pollen, 3) 2 pollen av *Callitriche* sp. hittades vid ett djup på 198–162 cm vilket i analysen av sedaDNA stämmer överens med en hög koncentration av *Callitriche hermaphroditica* och *C. palustris*.

Under tidig holocen etablerades en vegetation av buskar och tundra som sedan följdes av en skog av *Betula* med inslag av *Pinus* baserat på höga pollenkoncentrationer. Närvaron av träd tillsammans med identifieringen av *Limosella aquatica* och *Rhodo-*

dendron tomentosum i sedaDNA tyder på ett varmare klimat än nutid under tidig och mellersta holocen. Författarna kom även fram till att det var svårt att rekonstruera artrikedomen endast baserat på pollendata då denna begränsas av osäkerheter beträffande pollenproduktivitet och pollenspridning samt låg taxonomisk precision. De anser därför att uppskattningar av artrikedomen bör baseras på analyser av sedaDNA eftersom sedaDNA bättre reflekterar den lokala florans sammansättning och diversitet.



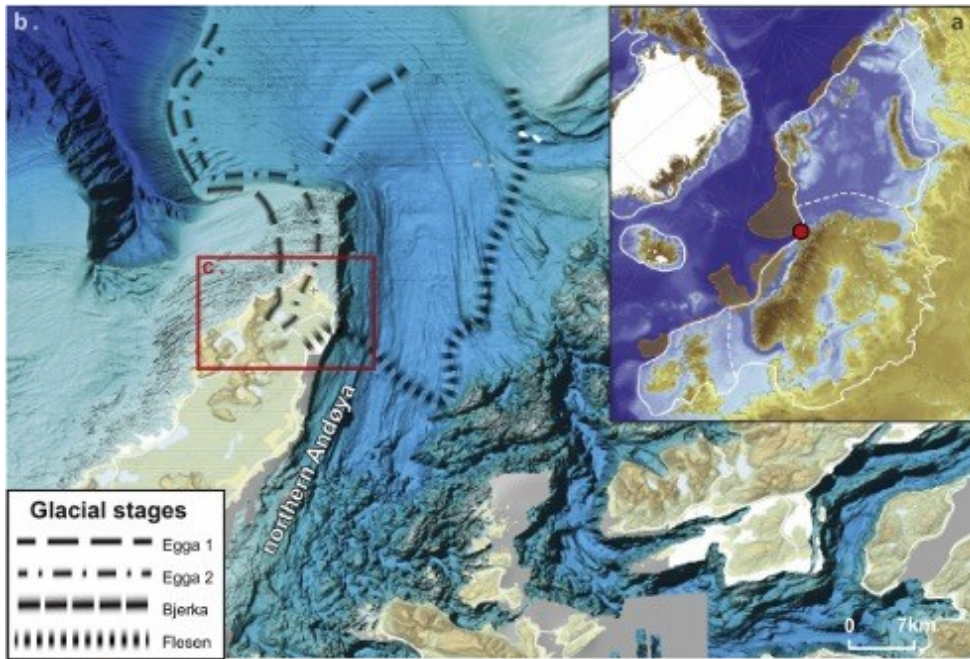
Figur 9. Pollen- och aDNA-diagram för örter, gräs- och gräslänkande växter, vattenlevande växter samt mossor. Från Clarke et al. (2018).

5.5 Last Glacial Maximum environmental conditions at Andøya, northern Norway; evidence for a northern ice-edge ecological “hotspot” (Alsos et al. 2020)

Studien baseras på undersökningar av sjösediment från ön Andøya som ligger utmed Norges nordvästra kust. Eftersom Andøya är belägen ungefär 6,1 km från kontinentalshelvet som fortsätter ner i abysen har detta begränsat inlandsisens vertikala utbredning under Weichsel-istidens kallaste fas LGM då shelvet var torrlagd p.g.a. låg global havsnivå. Inlandsisen har därför retirerat från Andøya tidigare än på andra stäl-

len utmed den västra kusten. Tidigare studier på platsen tyder på att området varit ett LGM-refugium, eventuellt t.o.m. för träd. Studien baseras på tre sjöar på Andøyas norra del; Øvre Æråsvatnet med en yta på 20,4 ha belägen på 43 m.ö.h., Nedre Æråsvatnet (20.6 ha, 34 m m.ö.h.) och Endletvatn (28.6 ha, 35 m.ö.h.; Figur 10). Berggrunden runt sjöarna är fri från kalk och består av amfiboliter samt hornblände och glimmergnejser.

Tre borrhämnor från sjön Øvre Æråsvatnet studerades och analyserades för pollen, makrofossil samt sedaDNA. Analysen av aDNA genomfördes genom NG metabarcoding och borrhämnorna daterades genom 14C-metoden. Artikeln redogör även för äldre undersök-



Figur 10. a: karta över norra Eurasien med vita linjer som visar LGM-utbredningen och bruna fält för sedimentplymer vid trågmyningar. Andøya är markerat med en röd prick. b: norra delen av Andøya och omkringliggande område. De streckade linjerna visar israndlägen. c: närbild på sjön Øvre Æråsvatnet och de omkringliggande sjöarna. Siffrorna indikerar tidigare undersökningar inom området. Heldragna och streckade linjer visar lokala moräner och kustlandformer. Från Alsos et al. (2020).

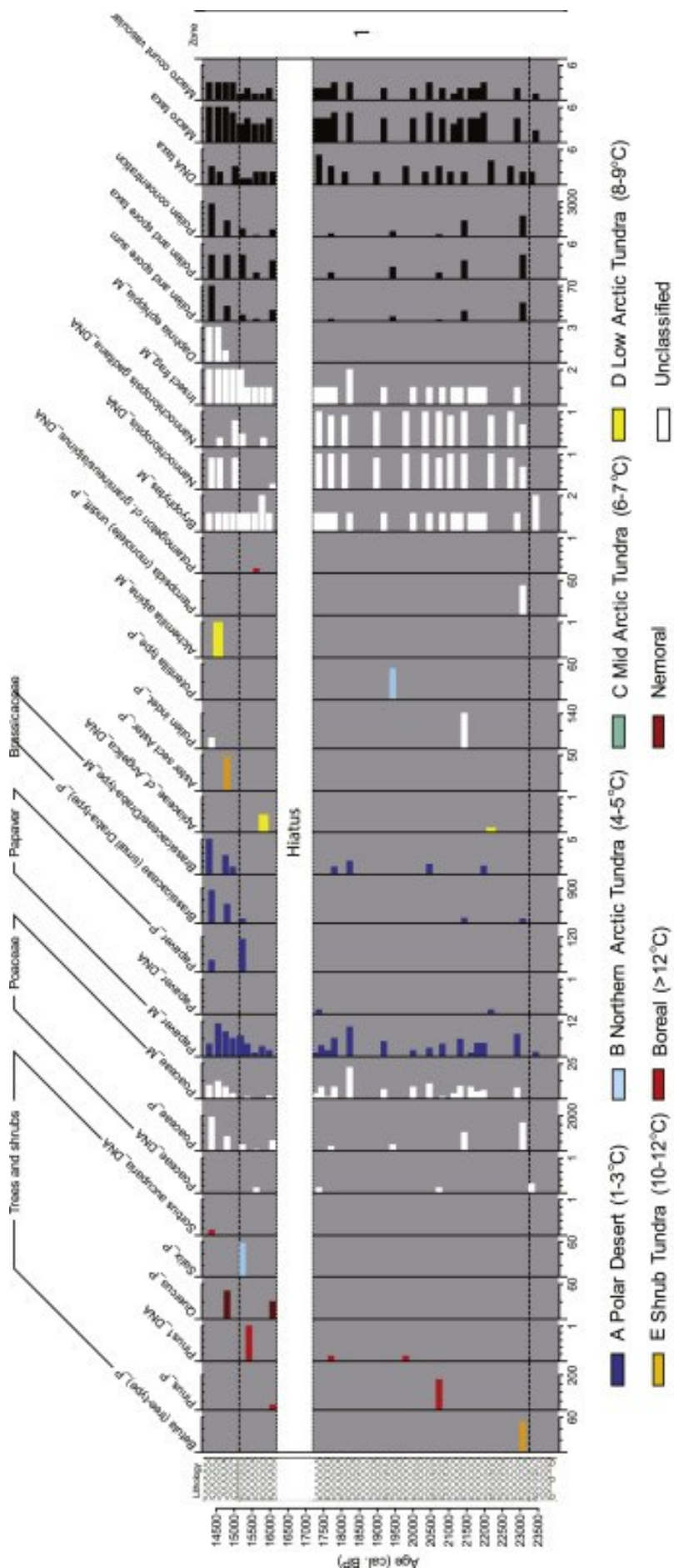


ningar av platsen (Parducci et al. 2012a) och jämför med nya fynd genom egna undersökningar. Borrkärnorna daterades genom AMS (Accelerator Mass Spectrometry) på 23 prover av identifierade växtmakrofossil. Dateringen visade att sedimenten har en ålder på 26-8 tusen år före nutid. Borrkärnorna representerar därför LGM till tidig-Holocen.

Analysen av sedaDNA var komplicerad på grund av den höga halten av organiskt material i sedimenten. Forskarna fick testa tre metoder varav den tredje gav mest pålitliga resultat. Den tredje metodens resultat användes sedan i studien. Den tredje metoden genomfördes tre gånger på provet och resulterade i varierade bakgrundshalter som alla innehöll tall och gran. se-

daDNA analyserades med en NG metabarcoding-metod och endast taxa som; 1) blev 100% identifierade, 2) identifierade i minst tre upprepningar från samma prov, samt 3) fick minst 10 avläsningar totalt genom hela datasetet behölls och studerades vidare.

Förekomsten av pollen, växtmakrofossil och sedaDNA i borrkärnorna visar att området med säkerhet varit isfritt sedan 23 400 år före nutid. Det fanns även tecken som tyder på att området möjligen varit isfritt från så länge som 26 700 år före nutid, detta kunde däremot inte bevisas med säkerhet. Förekomsten av termofila (värmeälskande) taxa i sedimentet antyder att det förekommit kortare perioder av förhållanden som gynnat lågarktisk tundra och kanske även busk-

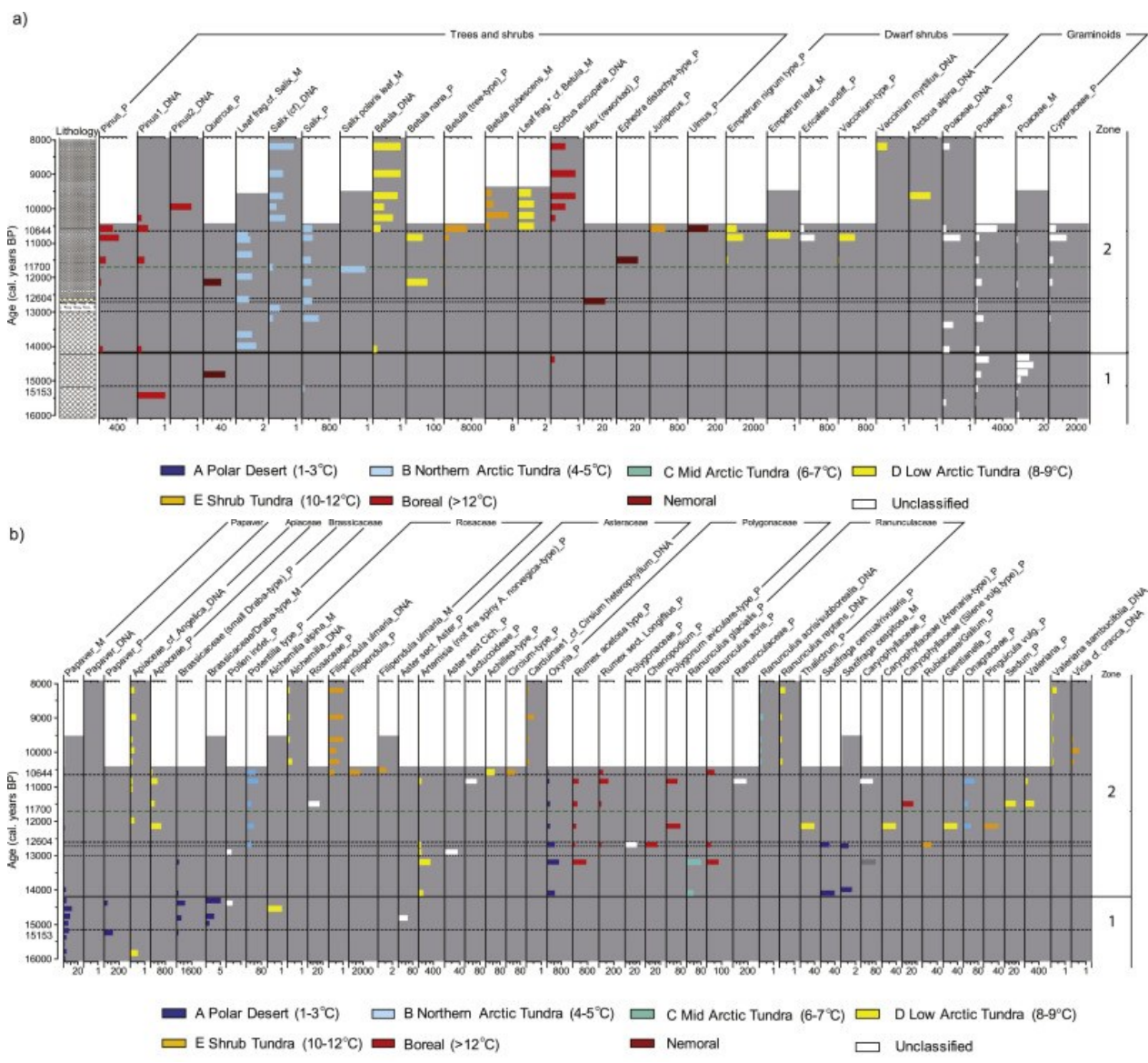


Figur 11. Diagram över identifierade pollen, makrofossil samt aDNA för intervallet 23,5-14,2 cal. tusen år före nutid. Färgkodningen indikerar de bioklimatiska subzoner till vilka taxa kategoriserades. De streckade linjerna indikerar litologiska enheter. Från Alsos et al. (2020).

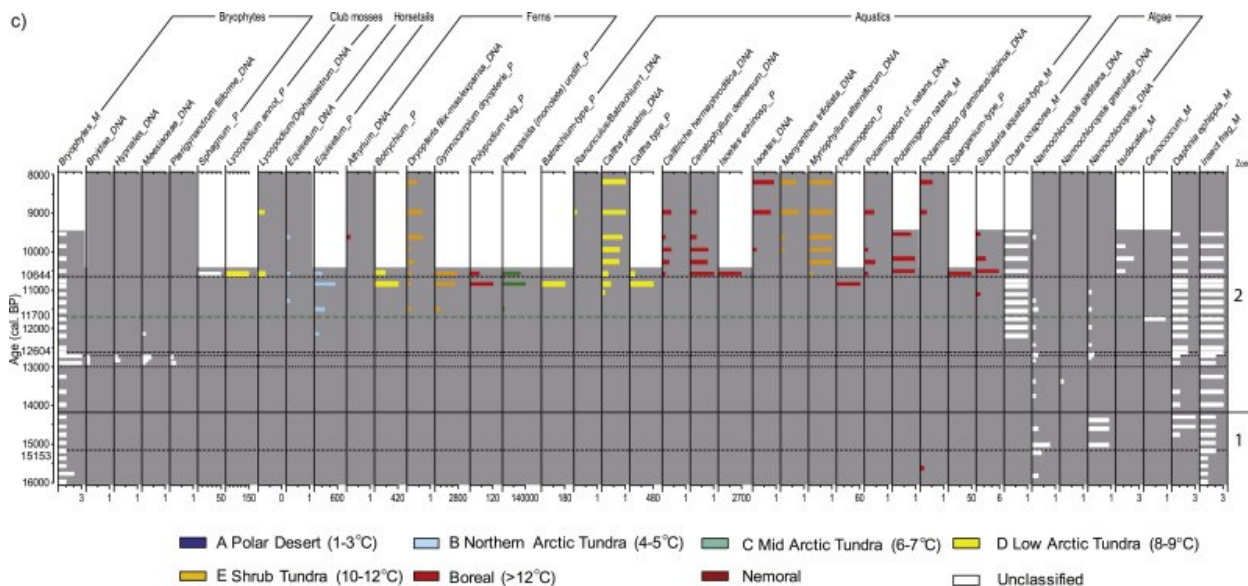
tundra i perioden 24-14,2 tusen år f.n. (Figur 11). Inom denna period identifierades även aDNA från tall och gran. Däremot var koncentrationen för aDNA ej skiljbar från bakgrundskontaminering. Förekomst av tall och gran kan däremot inte helt uteslutas då miljön periodvis kunnat göra det möjligt för tall och gran att växa i området genom en hög näringshalt i marken, närheten till det varma havsvattnet, kustnära nunataker samt en lokal population av havsfåglar som tillsammans skapat en 'hotspot' eller ett mikro-refugium.

Genom analys av aDNA kunde 39 taxa identifieras, varav endast de 37 taxa som passerade alla kvalitetskriterier användes vid tolkningarna. 5 av 39 taxa var kärlväxter som tillhör gruppen örter och gräs. Även aDNA från *Picea* (gran) och *Pinus* (tall) identifierades, men dessa ansågs vara kontaminering och användes därför inte. 60 typer av pollen och kryptogamer kunde identifieras varav 46 kunde klassificeras till bioklimatiska zoner. Pollen från *Betula* (björk) dominerar

pollenarkivet i holocena prover (Figur 12a, 12b, 12c). Av de 19 identifierade taxa från makrofossilerna härstammade 14 från kärlväxter, där *Papaver* (vallmo) och *Poaceae* (gräs) var de mest förekommande makrofossilerna. *Papaver*, *Poaceae* och *Brassicaceae* (korsblommiga växter) var de vanligaste förkommande makrofossilerna fram till 14,2 cal ka BP då *Salix* (vide) och *Saxifraga* (bräckesläktet) blev mer vanliga. Detta varade till ungefär 10 500 f.n. då *Betula* och vattenlevande taxa dominerar bland makrofossilerna.



Figur 12a, b och c. Diagram över identifierade pollen, makrofossil samt aDNA för intervallet 16-8 cal tusen år före nutid. a: träd, buskar, dvärgbuskar och graminoider. b: örter. c: mossor, lumrar, ormbunkar, vattenlevande växter, alger och övriga. Från Alsos et al. (2020).



Figur 12. Fortsättning.

6 Diskussion

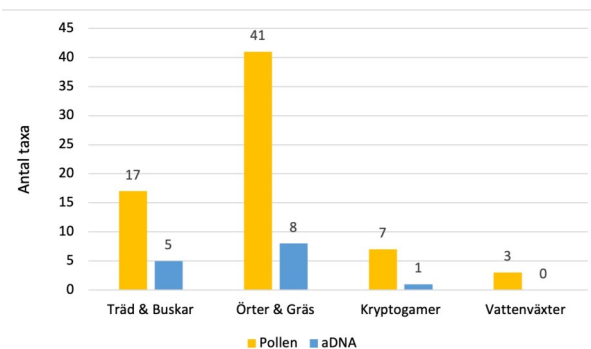
6.1 Skillnader i antal och typ av taxa dokumenterade genom aDNA jämfört med pollen och växtmakrofossil

Studien av Parducci et al. (2012a) skiljer sig från de övriga tre som redovisas här genom att den fokuserar på att belägga förekomsten av några specifika taxa i stället för att försöka hitta så många taxa som möjligt. Författarna diskuterar förekomsten av pollen, makrofossil och aDNA från *Picea* sp. och *Pinus* sp. samt utvecklingen av dessa träd. Diskussionen av aDNA-data fokuserar mest på genetisk utveckling, artbildande samt arternas spridning. Genom analysen av aDNA samt DNA från ett flertal levande trädindivider kunde forskarna följa spridningen av *Picea* sp. och *Pinus* sp. mer detaljerat jämfört med om de endast hade studerat makrofossil och pollen då dessa metoder kan ha lägre taxonomisk precision (Birks & Birks 2016).

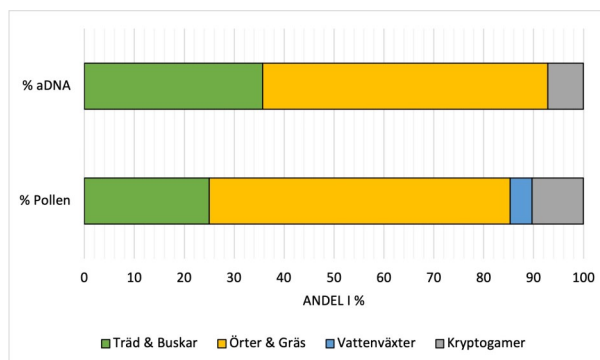
Paus et al. (2015) identifierades 94 terrestra taxa, med varierande taxonomisk precision, genom analys av pollen och 14 taxa genom aDNA. I flera fall resulterade aDNA-analysen i en högre taxonomisk precision jämfört med pollen. 68 av taxa identifierade som pollen redovisades och av dessa 68 var 17 träd och buskar (25%), 41 örter och gräs (60%), 7 kryptogamer

(specifikt lummeväxter och ormbunsväxter) (11%) och 3 vattenväxter (4%) (Figur 13 och 14). Fördelningen av taxa för aDNA var 64% örter och gräs samt 36% träd. Gemensamt för båda analysmetoderna var majoriteten av identifierade gräs och örter som stod för >50% av taxan. Det fanns pollen från taxa tillhörande grupperna buskar och dvärgboskar samt kryptogamer vilka inte gick att hitta som aDNA. Att dessa taxa inte gick att hitta som aDNA kan ha ett flertal förklaringar; det kan bero på placeringen av växterna i förhållande till sjön, deras möjlighet till transport som växtfragment till sjön samt hur lätt det organiska materialet bryts ned (Jonsson et al. 2013). Örter, gräs och träd har små delar i form av blad som relativt enkelt skulle kunna transporteras till sjön antingen eoliskt eller fluvialt då sjön är belägen vid foten av en höjd.

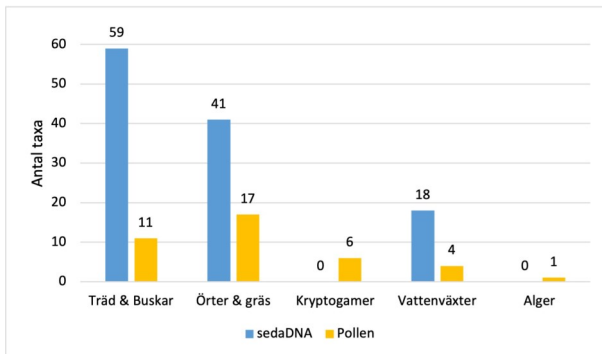
Clarke et al. (2018) identifierade 118 taxa genom sedaDNA och 39 taxa genom pollen. Av de 118 taxa som identifierades genom aDNA var 59 taxa träd och buskar (50%), 41 taxa örter och gräs (34,75%) och de resterande 18 taxa identifierades till vattenväxter (15,25%) (Figur 15 och 16). För pollenidentifikationen blev fördelningen följande; 11 träd och buskar (28,21%), 17 örter och gräs (43,59%), 6 kryptogamer (15,38%), 4 vattenlevande taxa (10,26%) och 1 alg (2,56%). aDNA identifierade fler taxa än pollen, 118



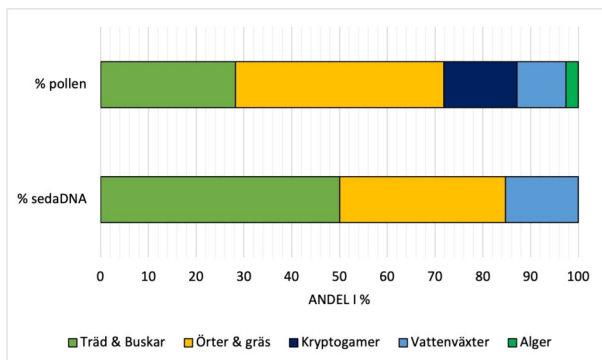
Figur 13. Antalet taxa som identifierades genom pollen-respektive aDNA-analys fördelat på växtgrupp, från (Paus et al. 2015).



Figur 14. Procentuella fördelningen av identifierade taxa tillhörande olika växtgrupper för respektive analysmetod (pollen respektive aDNA), från (Paus et al. 2015).



Figur 15. Antalet taxa som identifierades genom pollen- respektive aDNA-analys fördelat på växtgrupp, från (Clarke et al. 2018).

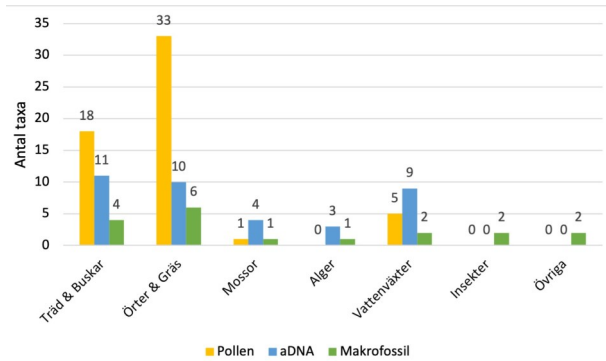


Figur 16. Procentuella fördelningen av identifierade taxa tillhörande olika växtgrupper för respektive analysmetod (pollen respektive aDNA), från (Clarke et al. 2018).

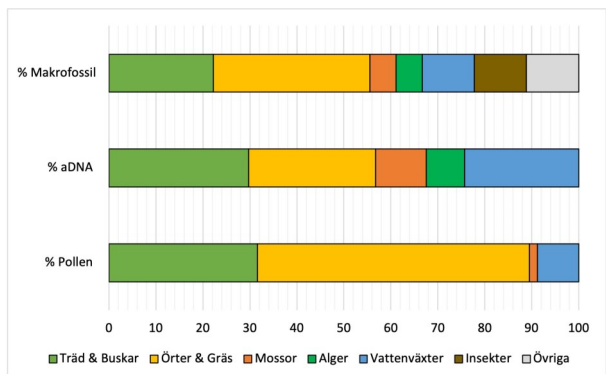
taxa respektive 39, men pollenarkivet inkluderade fler grupper då kryptogamer och alger kunde identifieras genom pollenanalys men ej genom aDNA.

Alsos et al. (2020) identifierade 37 godtagbara taxa genom aDNA varav 11 var träd och buskar (30%), 10 örter och gräs (27%), 9 vattenväxter (24%), 4 mossor (11%) och 3 alger (8%) (Figur 17 och 18). Utifrån Figur 12a och 12b går det att urskilja 57 taxa som identifierats genom pollen. Av dessa pollen var 33 örter och gräs (58%), 18 träd och buskar (31%), 5 vattenväxter (9%) och 1 mossa (2%) (Figur 17 och 18). Totalt identifierades 18 makrofossiltaxa varav 6 var örter och gräs (33%), 4 träd och buskar (22%), 2 vattenlevande växter (11%), 2 insekter (11%), 2 övriga (11%), 1 mossa (6%) och 1 alg (6%) (Figur 17, 18).

Analys av pollen identifierade flest taxa inom gruppen örter och gräs, medan analys av aDNA identifierade flest taxa från gruppen träd och buskar. Antalet taxa av träd och buskar som identifierades genom pollen och aDNA är snarlik, 32% respektive 30%. Generellt sett hade analysen av aDNA en högre taxonomisk precision än pollen och makrofossil. I vissa fall identifierades även en taxon genom flera metoder på ett givet djup. Analysen av aDNA gjorde i många av dessa fall att en taxon kunde identifieras med en högre taxonomisk precision. Fynden av pollen och/eller makrofossil på samma djup stöder fynden av aDNA och gör att sannolikheten att aDNA har blivit kontaminerat på det givna djupet mycket låg. Det verkar inte finnas någon större skillnad mellan identifieringen av taxa genom makrofossil och aDNA för grupperna örter och gräs samt alger, medan det skiljer mer för träd



Figur 17. Antalet taxa som identifierades genom pollen- respektive aDNA- och makrofossilanalys fördelat på grupp, från (Alsos et al. 2020).

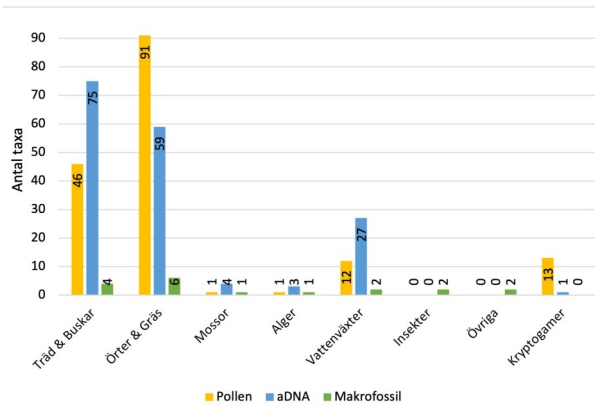


Figur 18. Procentuella fördelningen av identifierade taxa tillhörande olika grupper för respektive analysmetod (makrofossil, aDNA respektive pollen), från (Alsos et al. 2020).

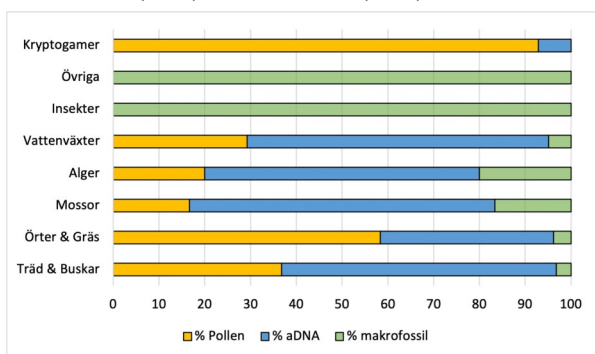
och buskar, vattenväxter samt mossor. Studien fokuserade på att analysera växters DNA, vilket gjorde att DNA från insekter och andra djur ignorerades (Alsos et al. 2020), Insekter är ändå med i Figur 18 för att ge en översiktlig bild av fördelningen av antalet identifierade taxa för respektive analysmetod.

De två grupperna av taxa som identifierades flest gånger genom de tre metoderna makrofossil-, pollen- och aDNA analyser i studierna av Paus et al. (2015), Clarke et al. (2018) och Alsos et al. (2020) är örter och gräs (156 ggr) och träd och buskar (125 ggr) (Figur 19). Därefter kommer vattenlevande taxa med 41 identifieringar, kryptogamer med 14 taxa och resterande grupper ligger under 10 identifieringar. Identifiering genom aDNA kunde göras av alla grupper av taxa förutom insekter och övriga, vilket är grupper som inkluderar 4 taxa som endast identifierades genom makrofossilanalys (Figur 19). Totalt identifierades 169 taxa genom aDNA, 164 taxa med pollen och 18 med makrofossil. Ibland kunde samma taxa identifieras till artnivå med olika metoder i samma artikel. Detta skedde oftast med makrofossil och aDNA i studien av Alsos et al. (2020).

Utifrån Figur 20 och 21 går det även att se den procentuella fördelningen av identifierade taxa för de olika taxonomiska grupperna. aDNA som analysmetod kunde identifiera flest taxa tillhörande träd och buskar och därefter örter och gräs, jämfört med pollen som analysmetod som identifierade flest örter och gräs. aDNA identifierade 62% av taxa tillhörande träd och buskar medan pollen identifierade 35% (Figur 20). För



Figur 19. Totala antalet identifierade taxa per organismgrupp och analysmetod i studierna av Paus et al. (2015), Clarke et al. (2018) och Alsos et al. (2020).



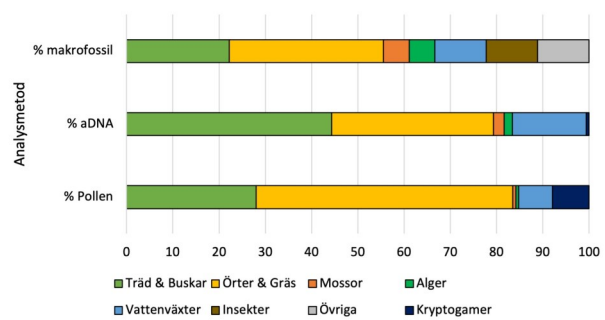
Figur 20. Procentuella fördelningen av identifierade taxa tillhörande olika organismgrupper i studierna av Paus et al. (2015), Clarke et al. (2018) och Alsos et al. (2020).

örter och gräs är förhållandet omvänt med pollen som identifierade flest taxa (55%) och aDNA identifierade 41% (Figur 20).

Utifrån Figur 21 kan det observeras att identifikation genom makrofossilanalys kunde identifiera taxa inom flest grupper av taxa. Analysen av mängden taxa som kunde identifieras per grupp taxa för pollen och aDNA visar att analysmetoderna var olika bra på att identifiera olika grupper av taxa. Pollen identifierade fler taxa än aDNA inom gruppen örter och gräs medan aDNA identifierade fler taxa inom träd och buskar. Utifrån informationen tagen från Paus et al. (2015), Clarke et al. (2018) och Alsos et al. (2020) är det även klart att analyser av aDNA kan ge en högre taxonomisk precision särskilt vid identifikation av träd och buskar samt örter och gräs.

6.2 aDNA-analysers bidrag till kunskapen om vegetationsutvecklingen i Skandinavien under och efter Weichsel-istiden

Utifrån resultaten som presenteras i de fyra studerade artiklarna (Parducci et al. 2012b; Paus et al. 2015; Clarke et al. 2019; Alsos et al. 2020) kan det konstateras att väl genomförda analyser av aDNA ger bra kompletterande data om vegetationsutvecklingen och den lokala floran från provtagningsplatserna. Vissa lågväxta örter, vedartade växter samt träd har i de sedimentära lagerföljderna inte alltid lämnat makro-



Figur 21. Procentuella fördelningen av identifierade taxa tillhörande olika grupper för respektive analysmetod (makrofossil, aDNA respektive pollen) baserat på data från studierna av Paus et al. (2015), Clarke et al. (2018) och Alsos et al. (2020).

fossil eller pollen efter sig men har kunnat identifierats genom aDNA (Alsos et al. 2020). Detta kan bero på ett flertal faktorer som exempelvis att växtdelar och pollen har brutits ner eller att växterna inte har producerat tillräckligt med pollen som kunnat nå sjöarna för att bevaras där (tafonomiska processer). Växter som lever i kalla klimat, exempelvis i närheten av glaciärer, producerar inte lika mycket pollen jämfört med individer av samma art som lever i varmare miljöer (Totland 2001; Hicks 2006). Växterna har däremot lämnat spår efter sig i form av aDNA vilket gjort det möjligt för exempelvis Clarke et al. (2019) att få en djupare förståelse för vilka växter som fanns på Varanger-halvön för 10 000–4 000 år sedan. I sedaDNA-arkivet från den perioden finns sekvenser av aDNA från arterna *Rhododendron tomentosum* och *Limosella aquatica* (Figur 8 och 9) som indikerar varmare förhållanden jämfört med idag. Idag växer dessa arter som närmast ca 50 km i syd- till sydöstlig riktning i ett något varmare klimat. Dessa arter kunde inte återfinnas i pollenarkivet, och därför hade deras tidigare närvaro i området varit okänd om inte aDNA hade studerats.

Genom användningen av bland annat aDNA-analys har det kunnat visas att det antagligen funnits refugier för en flera typer av taxa under anda hälften av Weichsel-istiden längs med Skandinavians norra och nordvästra kust (Parducci et al. 2012b; Clarke et al. 2019; Alsos et al. 2020).

Alsos et al. (2020) identifierade genom aDNA förekomsten av *Pinus* från ca 15 153 år f.n., *Sorbus aucuparia* från ca 14 500–14 250 år före nutid samt *Potamogeton gramineus/alpinus* från ca 15 500 år före nutid. Dessa taxa har Alsos et al. (2020) klassificerat som tillhörande en subzon av boreal vegetation som växer då medeltemperaturen under sommaren är >12°C. Dessa växter indikerar ett refugie för borealisk vegetation där tillgång till flytande vatten fanns då *Potamogeton gramineus/alpinus* är en vattenlevande växt. Alsos et al. (2020) identifierade även pollen från *Salix* som hade en ålder på ca 15 100 år f.n. vilket även tyder på ett lokalt varmare klimat. Förekomsten av dessa växter ifrågasätter glaciationsmodellerna för området som förespråkar en glacial miljö längs med Norges kust och visar kanske snarare på en mer varierad miljö. Gällande *Sorbus aucuparia* kunde denna taxon endast identifieras genom aDNA och i vissa fall kunde en taxon identifieras mycket tidigare med aDNA jämfört med pollen/makrofossil som exempel-

vis *Apicaceae* och *Potamogeton* (Alsos et al. 2020).

Liknande för Clarke et al. (2019) är att vissa taxa endast kunde identifieras genom aDNA, närmare bestämt *Vaccinium* sp., *Rhododendron tomentosum*, *Limosella aquatica* och *Potamogeton*. För undersökningsområdet och tidsintervallet som Clarke et al. (2018) fokuserade på hade inlandsisen redan smält bort från området vid 13 000–12 000 år före nutid (Stokes et al. 2014; Stroeven et al. 2016). Det som är av intresse är att dessa växter hade förblivit oupptäckta om de inte hade analyserat för aDNA. Dessa taxa signalerar ett varmare klimat i området mellan ca 10000–4000 år före nutid jämfört med vad som tidigare troddes samt att denna period var varmare än den föregående perioden.

Paus et al. (2015) uppvisade i ett flertal fall att aDNA gav en högre taxonomisk precision, exempelvis för *Bistorta vivipara* och *Pinus sylvestris*. Utöver detta identifierade aDNA 7 taxa som ej identifierades genom pollen. Dessa taxa tillhör de två grupperna träd och buskar samt örter och gräs. Taxan som endast identifierats genom aDNA var *Alchemilla* sp., *Arbutoideae*, *Bartsia alpina*, *Fagaceae*, *Quercus* sp., *Salicaceae* och *Splachnum* sp..

Dessa fynd ifrågasätter vår tidigare syn på vilka växter som återetablerade sig och vilka som överlevde i refugier och sedan spred sig därifrån samt när detta skedde. Tidigare har makrofossilfynd av *Pinus sylvestris* och *Picea abies* visat att dessa arter levde på nunatakerna ca 1–1,4 km över havsytan i Skandinaviska fjällkedjan för ca 11,7 respektive 11–10 tusen år f.n. (Kullman 2008). Nu finns det underlag i form av fynd av aDNA som stödjer att dessa träd (tall och gran) kan ha levt i kryptiska refugier i kustnära områden längre norrut (t.ex. Andøya) för ca 22–19,2 tusen år f.n. (*Pinus* sp.) och ca 17 000 år f.n. (*Picea* sp.) (Parducci et al. 2012). Dessa fynd innebär att modellen för hur dessa arter spridit sig i Skandinavien efter den senaste istiden behöver revideras. Däremot bemöttes dessa fynd av kritik som centrerar kring två problem (Birks et al. 2012). Den första problematiken enligt Birks et al. (2012) gäller metodiken där risken för kontaminering vid provtagning och förvaring av sedimentkärnan belyses. Birks et al. (2012) påstår att Parducci et al. (2012a) valde fel borr för att minimera risken för kontaminering samt att sedimentkärnans ålder (vid provtagning för aDNA analys) och förvaringsförhållanden är problematiska då de kan orsaka framtagna data att bli tvivelaktiga. Birks et al. (2012) nämnde även att de finner kontamineringen av *Urtica* (nässelväxter) oroadande då forskarna ansåg att denna taxon bör ej vara närvarande i provet.

Birks et al. (2012) andra synpunkt var att Parducci et al. (2012b) inte varit tillräckligt kritiska i att ta hänsyn till klimatet under tiden Parducci et al. (2012b) påstår att tall och gran kan ha levt på Andøya. Birks et al. (2012) nämner ett flertal anledningar som exempelvis; att det var högst osannolikt för tall och gran att växa på Andøya då ön var belägen under havsytan efter deglaciationen, att klimatet var för kallt för träden att överleva på ön i kombination med att ursprunget till tallens och granens aDNA kan vara från drivved samt att det finns alternativa förklaringar till spridningen av haplotyp A. Birks et al. (2012) nämner även att de finner frånvaron av pollen från *Picea* och *Pinus* efter

17 700 år f.n. förvånande. Detta då trädpopulationer i refugier med en låg pollenproduktion ofta producerar mer pollen under deglacial uppvärmning (Birks et al. 2012).

Kritiken från Birks et al. (2012) bemöttes punkt för punkt och började med att avvisa kritiken kring pålitligheten hos aDNA. Parducci et al. (2012b) påvisade att deras sedimentkärnor hämtats från två olika lokaler, olika tillfällen samt med olika redskap. Utöver detta analyserades proverna för två typer av aDNA (kloroplast-DNA och mitokondrie-DNA) för att minimera risken för kontaminering. Proverna skickades även till tre aDNA-laboratorier för att kunna jämföra resultaten och ytterligare minimera risken för kontaminering. Parducci et al. (2012b) förtydligar även metodiken och konstaterar att ingen borr kan garantera att kärnan är fri från kontaminering. Metodiken summerades i ett fåtal steg som beskrev konventionella protokoll/steg för att minimera risken för kontaminering. Parducci et al. (2012b) beskrev även att ingen kontaminering från sötvatten kunde ske då proverna togs från kärn samt att de växter som växer kring kärret inte var närvarande som DNA utan att de flesta taxa som identifierats var lik pollentaxan.

Parducci et al. (2012b) argumenterade även för möjligheten att *Pinus* och *Picea* kunnat växa på Andøya genom att hänvisa till forskning som visar att Andøya var isfritt under LGM, att inlandsisen var högt dynamisk samt att Endletvatn var en sjö belägen över havsnivån under LGM (Nesje et al. 2007). De påpekar även att det är möjligt för växter att inte bara växa på bergstoppar utan även på lågt topografiska lägen, vilket stöds av tidigare pollen- och makrofossil-analyser i området. Vidare visas förekomsten av träd i en figur tillsammans med en temperatur-rekonstruktion av Alm (1993) som bland annat visar när medeltemperaturen under den varmaste månaden var >10°C, vilket är den temperatur som behövs för att taxa av träd ska etableras och överleva (Parducci et al. 2012a).

Gällande om haplotyp A reflekterar spridningen av *Picea* förtydligar Parducci et al. (2012b) att de funnit en tillräcklig stor population vid ungefär 10 300 år f.n. för att kunna säga med säkerhet att haplotyp A funnits på höga latituder tidigt och sedan spridits därifrån. Parducci et al. (2012b) erkänner även att fler ingående undersökningar med mer nyare tekniker bör göras inom ämnet för att få en tydligare förståelse för granens utveckling i Skandinavien.

Sista punkten gällande varför *Pinus* och *Picea* försvann från Andøya efter ca 17 700 år f.n., förklarar Parducci et al. (2012b) med att de anser att tankesättet "once there, always there" är ett statistiskt sätt att se på vegetationsutvecklingen under kvartär. Lokala populationer tillkommer och dör lokalt ut kontinuerligt, särskilt om de lever under suboptimala förhållanden. Det finns ingen anledning till att alla populationer som identifierats i det paleoekologiska arkivet under LGM skulle överleva fram till idag (Parducci et al. 2012a). Även värt att notera är att även studien av Alsos et al. (2020) detekterade närvaron av *Pinus* och *Picea*, men valde att vara mer försiktiga i sin tolkning av data och tolkade i stället dessa taxa som bakgrundskontaminering. Kanske gjordes detta då deras resultat inte kunde utesluta att det var bakgrundskontaminering samt att taxans närvaro var för svag för att kunna ge stöd till ett

påstående om att taxan med säkerhet var närvarande under den perioden.

Studier av aDNA har även resulterat i en bredare förståelse för vilka örter, (dvärg)buskar, träd och gräs som levit i refugierna sedan senglacial tid (Clarke et al. 2019; Alsos et al. 2020). Dessa fynd ger en tydligare inblick i hur det lokala klimatet var vid dessa platser under glacial till senglacial tid och visar att Skandinavien inte bara var helt täckt av en sammanhängande inlandsis under Weischel utan att det fanns isfria områden där växter, och i vissa fall även djur, kunde leva (Alsos et al. 2020).

6.3 För- och nackdelar med att använda aDNA-analys för att studera vegetationsutveckling jämfört med pollen- och makrofossilanalys

Som tidigare nämnts i diskussionen har användandet av aDNA för att studera vegetationsutveckling både för- och nackdelar. En fördel med att kombinera analys av aDNA med pollenmorfologi är att det går att identifiera pollen till en lägre taxonomisk nivå med hjälp av aDNA (Birks & Birks 2016). Utifrån artiklarna som studerats går det att se att aDNA gav en ökad insikt beträffande många växtgrupper och särskilt grupperna träd och buskar samt örter och gräs. Vilka kriterier som används för aDNA har betydelse då kriterierna avgör vilka taxa som räknas som identifierade. Paus et al. (2015) använde metabarcoding och kriterierna för deras identifikation var att aDNA skulle matcha >95% mot referensbiblioteket samt ha >100 avläsningar. Clarke et al. (2019) använde sig av metabarcoding (8 repetitioner/prov) och NGS med kriterierna att taxan måste visa en match på 100% mot referensbiblioteket samt bli identifierad >10 gånger. Alsos et al. (2020) använde sig av NG metabarcoding med kriterierna 100% identifierad, >3 identifikationer/prov samt att taxa måste avläsas >10 gånger i hela datasetet.

Gemensamt för alla artiklarna är att de jämför sina sammanställda DNA-sekvenser mot ett referensbibliotek. Storleken på referensbiblioteket är således avgörande när det kommer till vilka taxa som i slutet av analysen räknas som giltiga. Dessa referensbibliotek har med tiden vuxit och nya metoder för att kategorisera och identifiera olika växters 'biomarkere' har tagits fram (Hollingsworth et al. 2011; Kress 2017). Dagens referensbibliotek är mer övergripande och innehåller genom för fler taxa, men fortfarande saknas genetisk information för många taxa i dessa bibliotek (Kress 2017). Referensbiblioteken och analys av aDNA blir följaktligen bättre på att identifiera taxa med tiden då mer genetisk information adderas (Birks & Birks 2016). En anledning till att endast 14 arter identifierades i Paus et al. (2015) kan möjligen delvis förklaras av kriteriet att >100 avläsningar per taxon måste göras för att en taxon ska vara giltig. De andra två artiklarna (Clarke et al. 2019; Alsos et al. 2020) satte gränsen vid >10 avläsningar. Det har även gått fyra år mellan Paus et al. (2015) och Clarke et al. (2019), vilket kan medföra att metodiken, tekniken och kunskapen inom aDNA-analys har förbättrats när de nyare undersökningarna gjordes.

Jämfört med pollen och makrofossil var aDNA bättre på att identifiera vattenlevande växter i de här

inkluderade artiklarna, där aDNA identifierade omkring dubbelt så många taxa som de andra metoderna tillsammans. Metoden med minst framgång var makrofossil som endast gjorde 18 identifikationer av taxa. Däremot använde endast två artiklar makrofossil (Parducci et al. 2012b; Alsos et al. 2020) som undersökningsmetod, varav en fokuserade på tall och gran (Parducci et al. 2012b). Det är därför svårt att sammanställa data för dessa båda artiklar och sedan jämföra med statistik från resterande artiklar. Pollen var generellt bättre på att identifiera örter och gräs jämfört med aDNA och makrofossil. Lite mer än hälften av alla taxa identifierade med pollen tillhörde örter och gräs (ca 54%) medan endast uppemot en tredjedel av alla makrofossil och aDNA tillhörde samma grupp. Makrofossil hade däremot det bredaste taxonomiska gruppspannet, det vill säga att makrofossil var mest mångfaldiga.

Beroende på vilken information som är av intresse gällande aDNA anpassas analysmetoden efter detta. Är det av intresse att leta efter sällsynta taxa och att försöka kartlägga dess DNA, passar capture och NGS (Brown & Barnes 2015; García-García et al. 2016; Bris et al. 2018). Däremot, om det finns ett etablerat referensbibliotek för de typer av taxa som är av intresse passar NG metabarcoding bättre då det blir enklare att finna en match (Brown & Barnes 2015).

Växters förmåga att bevaras som DNA varierar, vilket resulterar i att inte alla växters DNA blir representerade i DNA-arkiven (Brown & Barnes 2015; Edwards 2020). Vissa växter lämnar makrofossil efter sig, andra bryts ned så att det inte går att utskilja fragmenten från varandra och vissa lämnar bara kvar pollen. Utifrån de artiklar som studerats i arbetet framgår det att det inte är rekommendabelt att endast genomföra aDNA-analys då detta ger ett skevt perspektiv på hur vegetation såg ut. Varken pollen eller makrofossil ger en komplett bild var för sig om floran heller. Däremot, om metoderna kombineras, kan en mer komplex bild över vegetationen skapas (Clarke et al. 2019; Alsos et al. 2020). De tre metoderna har en viss överlapp med identifierade taxa, men var och en av dem identifierar även taxa som de andra metoderna inte hittat. Dessa överlapp och unika identifieringar per analysmetod uppvisas ibland med venndiagram som i figur 4 i artikeln av Parducci et al. (2019).

Metodiken kring analyser av aDNA är i konstant utveckling och i takt med att metodiken utvecklas kan analyserna av aDNA användas på organismer allt längre tillbaka i tiden, vilket går att se genom att det fortlöpande publiceras nya artiklar med den äldsta identifierade organismen inom flora och fauna (Orlando et al. 2013; Willerslev et al. 2014; Van Der Valk et al. 2021). Antalet artiklar som berör aDNA har ökat genom åren och användningsområdena för aDNA har följaktligen ökat (Kistler et al. 2020). Det är möjligt att bättre följa arters evolutionära resa genetiskt med hjälp av aDNA som Parducci et al. (2012a) gjorde. I Paus et al. (2015) bidrog analyser av aDNA med att öka den taxonomiska precisionen ner till artnivå i många fall (ex. *Pinus sylvestris* och *Bistorta vivipara*). Analyser av aDNA har kunnat påvisa att det funnits fler typer av vattenlevande växter i sjöar på Andøya och Varangerhalvön för omkring 10 500 år f.n. än vad man tidigare trott (Clarke et al. 2019; Al-

sos et al. 2020). Däremot är det svårt att kvantifiera artförekomst genom aDNA i dagsläget då tillräcklig kunskap om tafonomin kring DNA saknas (Laramie et al. 2015; Sassoubre et al. 2016; Edwards 2020).

Utifrån vad som diskuterats har aDNA som analysmetod ett fåtal stora nackdelar som kan begränsa metoden: 1) inkompleta referensbibliotek, 2) risken att missa sällsynta arter vid PCR-processen, 3) risken för kontaminering av modernt DNA i proverna och 4) liten kunskap om hur tafonomiska processer påverkar det tillgängliga aDNA-materialet i sedimentet (Brown & Barnes 2015; Edwards 2020; Capo et al. 2021). Dessa begränsningar har man dock stegvis tagit sig an. Referensbiblioteken växer konstant, vilket minskar den utsträckning i vilken dessa bibliotek kan begränsa aDNA-analys (Kress 2017). Risken att missa sällsynta arter har minskats genom att PCR-metoden har utvecklats till ett flertal metoder som 'real time quantitative PCR' (qPCR) och 'droplet digital PCR' (ddPCR) (Xia et al. 2018). Gällande risken för kontaminering, samt metodiken vid provtagning och lagring av sediment, revideras metodiken kontinuerligt och fler försiktighetsåtgärder tas (Armbrecht et al. 2019). Rörande tafonomiska processers påverkan på aDNA har en del studier gjorts. En studie har kunnat påvisa att källan till det eroderade materialet som bär med sig aDNA till sedimentet starkt påverkar hur hög koncentrationen av aDNA blir (Giguët-Covex et al. 2019). Giguët-Covex et al. (2019) kunde påvisa att eroderat material som härstammar från högre horisonter av paleosolen för med sig mer aDNA till lakustrina sediment jämfört med materialet från lägre horisonter (som är mer rika på minerogent material) samt bar jord och finkornigt glacialt material. Giguët-Covex et al. (2019) kunde även konstatera att många artiklar som publicerats gällande växters aDNA har missat att diskutera tafonomins inverkan samt att detta verkar vara ett kunskapsområde som behöver utforskas ytterligare.

6.4 Framtida möjligheter till ökad kunskap om vegetationsutvecklingen i Skandinavien under och efter Weichsel-istiden baserad på aDNA-analys

På grund av alla tafonomiska processer som påverkar de organismer som senare kan återfinnas i exempelvis sediment blir endast en liten andel av alla organismer bevarade som fossil (Holland 2016). Genom aDNA har en ny undersökningsmetod med hög potential utvecklats som kommer att ytterligare utvecklas i framtiden. Men för att aDNA som analysmetod ska bli mer förlitlig krävs mer kunskap om bland annat vilka processer som påverkar hur aDNA i arkiven kom dit (Brown & Barnes 2015; Giguët-Covex et al. 2019; Beng & Corlett 2020; Edwards 2020; Capo et al. 2021). Det vill säga, vad är det aDNA egentligen representerar i paleomiljön? Varifrån och hur långt bort från sjön/våtmarken/havet härstammar det undersökta aDNA? Finns det arter som bevaras som DNA enklare än andra? I så fall, vad beror det på? Om det ska gå att kvantifiera artförekomst och populationsstorlek genom aDNA måste de mer tekniska aspekterna såväl som de tafonomiska processer som påverkar aDNA undersökas vidare (Beng & Corlett 2020; Edwards 2020).

Om mer sällsynta arter i floran ska studeras bör dessutom alternativa metoder till PCR beaktas för att kunna förbigå taxonomiska skevheter i vilka taxa som blir amplifierade (Beng & Corlett 2020; Edwards 2020). Nya metoder som ej inkluderar PCR för att analysera sällsynta taxa har utvecklats och testats på taxa inom gruppen artropoda (Zhou et al. 2013; Ji et al. 2020). Något liknande skulle eventuellt behövas för att hitta de mest sällsynta av växttaxa från de paleoekologiska arkiven.

Studier av aDNA gör det möjligt att finna spår av växt och djurliv som kanske inte bevarats i så pass bra skick att fossil kan artbestämmas. Det kan därför vara värt det att åter studera sjösediment som tidigare endast undersökts för pollen och/eller makro-/mikrofossil för att se om aDNA kan ge ytterligare insikt om hur vegetationen på lokalen har förändrats eller ge bevis på arters lokala förekomst i de fall där de inte lämnar andra spår i form av pollen eller makrofossil så som Alsos et al. (2020) har gjort. I framtiden bör sjöar i mellersta och södra Skandinavien undersökas på nytt med analyser av aDNA för att se vilken ny information som går att få om vegetationsförändringen under och efter Weichselistiden. Hittills har endast ett fåtal sådana studier publicerats (Parducci et al. 2019; Nota 2022). Fortsatta aDNA-studier kommer säkerligen att bidra med ny kunskap, och det är inte otroligt att dessa nya data kommer att förändra vår syn på hur vegetationen i Skandinavien har utvecklats under och efter Weichsel-istiden.

7 Slutsatser

Studier av aDNA är ett forskningsfält med hög potential och rum för förbättring. Med hjälp av denna metod har vi fått ny kunskap om hur vegetationen såg ut i norra Skandinavien. Genom en analys av de data som presenteras i de fyra studerade artiklarna går det att se att det finns en skillnad i hur många taxa som kan identifieras baserat på aDNA jämfört med pollen och makrofossil. Generellt sett kunde fler taxa identifieras genom pollen jämfört med aDNA och makrofossil. aDNA kunde däremot identifiera fler taxa än makrofossil. Inom grupperna träd och buskar, mossor, alger och vattenlevande växter var aDNA bäst på att identifiera taxa av de tre metoderna, och det var även huvudsakligen i dessa grupper som aDNA identifierade tidigare okända taxa.

Inlandsisens dynamik var mer komplex än vad man tidigare har trott, vilket bevisas genom förekomsten av refugier samt närvaron av ett flertal växter som kräver ett varmare klimat (ex. vattenlevande växter). Fler studier inom forskningsområdet behövs för att få en bredare kunskap om vegetationens förändringar under och efter Weichsel-istiden. För att öka tillförlitligheten i resultaten från aDNA-studier måste även fler studier på tafonomiska processers påverkan på aDNA göras.

8 Tack

Jag vill tacka min handledare Mats Rundgren. Tack för allt stöd och förståelse för mig och den tid det tagit mig att skriva klart uppsatsen. Jag vill även tacka för din inspiration och förslag som ligger till grunden för arbetet och den vägledning jag fått under arbetets gång.

9 Referenser

- Andreasson, P.-G. & Rodhe, A., 1990: Geology of the Protogine Zone south of Lake Vättern, southern Sweden: a reinterpretation. *Geologiska Föreningens i Stockholm Förhandlingar* 112, 107-125.
- Abbott, R. J. & Brochmann, C., 2003: History and evolution of the arctic flora: In the footsteps of Eric hultén: *Molecular ecology* 12, 299-313.
- Adler, C. J., Dobney, K., Weyrich, L. S., Kaidonis, J., Walker, A. W., Haak, W., Bradshaw, C. J., Townsend, G., Soltysiak, A. & Alt, K. W., 2013: Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the neolithic and industrial revolutions: *Nature genetics* 45, 450.
- Alm, T., 1993: Øvre åråsvatn-palynostratigraphy of a 22,000 to 10,000 bp lacustrine record on andøya, northern norway: *Boreas* 22, 171-188.
- Alsos, I. G., Sjögren, P., Brown, A. G., Gielly, L., Merkel, M. K. F., Paus, A., Lammers, Y., Edwards, M. E., Alm, T. & Leng, M., 2020: Last glacial maximum environmental conditions at andøya, northern norway; evidence for a northern ice-edge ecological "hotspot": *Quaternary Science Reviews* 239, 106364.
- Anderson, S., 1981: Shotgun DNA sequencing using cloned dnase i-generated fragments: *Nucleic acids research* 9, 3015-3027.
- Armbrrecht, L. H., Coolen, M. J., Lejzerowicz, F., George, S. C., Negandhi, K., Suzuki, Y., Young, J., Foster, N. R., Armand, L. K. & Cooper, A., 2019: Ancient DNA from marine sediments: Precautions and considerations for seafloor coring, sample handling and data generation: *Earth-Science Reviews* 196, 102887.
- Beng, K. C. & Corlett, R. T., 2020: Applications of environmental DNA (edna) in ecology and conservation: Opportunities, challenges and prospects: *Biodiversity and Conservation* 29, 2089-2121.
- Birks, H. H., 2007: Plant macrofossil introduction: *Encyclopedia of quaternary science* 3, 2266-2288.
- Birks, H. H., Giesecke, T., Hewitt, G. M., Tzedakis, P. C., Bakke, J. & Birks, H. J. B., 2012: Comment on “glacial survival of boreal trees in northern scandinavia”: *science* 338, 742-742. doi: doi:10.1126/science.1225345
- Birks, H. J. B. & Birks, H. H., 2016: How have studies of ancient DNA from sediments contributed to the reconstruction of quaternary floras?: *New Phytologist* 209, 499-506.
- Bøe, A.-G., Murray, A. & Dahl, S. O., 2007: Resetting of sediments mobilised by the lgm ice-sheet in southern norway: *Quaternary Geochronology* 2, 222-228.
- Bris, C., Goudenege, D., Desquirit-Dumas, V., Charif, M., Colin, E., Bonneau, D., Amati-Bonneau, P., Lenaers, G., Reynier, P. & Procaccio, V., 2018: Bioinformatics tools and databases to assess the pathogenicity of mitochondrial DNA variants in the field of next generation sequencing: *Frontiers in Genetics* 9. doi: 10.3389/fgene.2018.00632
- Brown, T. A. & Barnes, I. M., 2015: The current and future applications of ancient DNA in quaternary science: *Journal of Quaternary Science* 30, 144-153. doi: 10.1002/jqs.2770
- Capo, E., Giguet-Covex, C., Rouillard, A., Nota, K., Heintzman, P. D., Vuillemin, A., Ariztegui, D., Arnaud, F., Belle, S., Bertilsson, S., Bigler, C., Bindler, R., Brown, A. G., Clarke, C. L., Crump, S. E., Debroas, D., Englund, G., Ficetola, G. F., Garner, R. E., Gauthier, J., Gregory-Eaves, I., Heinicke, L., Herzschuh, U., Ibrahim, A., Kisand, V., Kjær, K. H., Lammers, Y., Littlefair, J., Messenger, E., Monchamp, M.-E., Olajos, F., Orsi, W., Pedersen, M. W., Rijal, D. P., Rydberg, J., Spanbauer, T., Stooft-Leichsenring, K. R., Taberlet, P., Talas, L., Thomas, C., Walsh, D. A., Wang, Y., Willerslev, E., Van Woerkom, A., Zimmermann, H. H., Coolen, M. J. L., Epp, L. S., Domaizon, I., G. Alsos, I. & Parnucci, L., 2021: Lake sedimentary DNA research on past terrestrial and aquatic biodiversity: Overview and recommendations: *Quaternary* 4, 6.
- Case, J. T. & Wallace, D. C., 1981: Maternal inheritance of mitochondrial DNA polymorphisms in cultured human fibroblasts: *Somatic Cell Genetics* 7, 103-108. doi: 10.1007/BF01544751
- Clarke, C. L., Edwards, M. E., Brown, A. G., Gielly, L., Lammers, Y., Heintzman, P. D., Ancin-Murguzur, F. J., Bråthen, K. A., Goslar, T. & Alsos, I. G., 2019: Holocene floristic diversity and richness in northeast norway revealed by sedimentary ancient DNA (seda DNA) and pollen: *Boreas* 48, 299-316.
- Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A., Vermet, T., Corthier, G., Brochmann, C. & Willerslev, E., 2007: Power and limitations of the chloroplast trnL (uaa) intron for plant DNA barcoding: *Nucleic Acids Research* 3 (35), (2007).
- Dahl, S. O., Nesje, A. & Øvstedal, J., 1997: Cirque glaciers as morphological evidence for a thin younger dryas ice sheet in east-central southern norway: *Boreas* 26, 161-180.
- Edwards, M. E., 2020: The maturing relationship between quaternary paleoecology and ancient sedimentary DNA: *Quaternary Research* 96, 39-47. doi: 10.1017/qua.2020.52
- Ficetola, G. F., Pansu, J., Bonin, A., Coissac, E., Giguet-Covex, C., De Barba, M., Gielly, L., Lopes, C. M., Boyer, F. & Pompanon, F., 2015: Replication levels, false presences and the estimation of the presence/absence from edna metabarcoding data: *Molecular ecology resources* 15, 543-556.
- Gad, Y. Z., Hassan, N. a.-M., Mousa, D. M., Fouad, F. A., El-Sayed, S. G., Abdelazeem, M. A., Mahdy, S. M., Othman, H. Y., Ibrahim, D. W. & Khairat, R., 2021: Insights from ancient DNA analysis of egyptian human mummies: Clues to disease and kinship: *Human Molecular Genetics* 30, R24-R28.
- García-García, G., Baux, D., Faugère, V., Mocllyn, M., Koenig, M., Claustres, M. & Roux, A.-F., 2016: Assessment of the latest ngs enrichment capture methods in clinical context: *Scientific Reports* 6, 20948. doi: 10.1038/srep20948
- Giguet-Covex, C., Ficetola, G. F., Walsh, K., Poulenard, J., Bajard, M., Fouinat, L., Sabatier, P., Gielly, L., Messenger, E. & Deville, A. L., 2019: New insights on lake sediment DNA from the catchment: Importance of taphonomic and analytical issues on the record quality: *Scientific Reports*

- 9, 1-21.
- Gilbert, M. T. P., Bandelt, H.-J., Hofreiter, M. & Barnes, I., 2005: Assessing ancient DNA studies: Trends in ecology & evolution 20, 541-544.
- Giles, R. E., Blanc, H., Cann, H. M. & Wallace, D. C., 1980: Maternal inheritance of human mitochondrial DNA: Proceedings of the National Academy of Sciences 77, 6715-6719. doi: 10.1073/pnas.77.11.6715
- Goehring, B. M., Brook, E. J., Linge, H., Raisbeck, G. M. & Yiou, F., 2008: Beryllium-10 exposure ages of erratic boulders in southern Norway and implications for the history of the Fennoscandian ice sheet: Quaternary Science Reviews 27, 320-336.
- Green, R. E., Krause, J., Briggs, A. W., Maricic, T., Stenzel, U., Kircher, M., Patterson, N., Li, H., Zhai, W. & Fritz, M. H.-Y., 2010: A draft sequence of the Neandertal genome: science 328, 710-722.
- Hagelberg, E., Sykes, B. & Hedges, R., 1989: Ancient bone DNA amplified: Nature 342, 485-485.
- Hänni, C., Laudet, V., Sakka, M., Bègue, A. & Stéhelin, D., 1990: Amplification de fragments d'ADN mitochondrial à partir de dents et d'os humains anciens: Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie 310, 365-370.
- Hebsgaard, M. B., Gilbert, M. T. P., Arneborg, J., Heyn, P., Allentoft, M. E., Bunce, M., Munch, K., Schweger, C. & Willerslev, E., 2009: 'The farm beneath the sand'—an archaeological case study on ancient 'dirt' DNA: Antiquity 83, 430-444.
- Hicks, S., 2006: When no pollen does not mean no trees: Vegetation History and Archaeobotany 15, 253-261.
- Holland, S. M., 2016: The non-uniformity of fossil preservation: Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 371, 20150130.
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W. & Little, D. P., 2011: Choosing and using a plant DNA barcode: PLoS one 6, e19254.
- Horai, S., Hayasaka, K., Murayama, K., Wate, N., Koike, H. & Nakai, N., 1989: DNA amplification from ancient human skeletal remains and their sequence analysis: Proceedings of the Japan Academy, series B 65, 229-233.
- Humphrey, L., Freyne, A., Van De Loosdrecht, M., Hogue, J. T., Turner, E., Barton, N. & Bouzouggar, A., 2019: Infant funerary behavior and kinship in Pleistocene hunter-gatherers from Morocco: Journal of Human Evolution 135, 13. doi: 10.1016/j.jhevol.2019.07.001
- Hutchison, C. A., Newbold, J. E., Potter, S. S. & Edgell, M. H., 1974: Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA: Nature 251, 536-538. doi: 10.1038/251536a0
- Ji, Y., Huotari, T., Roslin, T., Schmidt, N. M., Wang, J., Yu, D. W. & Ovaskainen, O., 2020: Spikepipe: A metagenomic pipeline for the accurate quantification of eukaryotic species occurrences and intraspecific abundance change using DNA barcodes or mitogenomes: Molecular ecology resources 20, 256-267.
- Jonsson, H., Ginolhac, A., Schubert, M., Johnson, P. L. F. & Orlando, L., 2013: MapDamage2.0: Fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters: Bioinformatics 29, 1682-1684. doi: 10.1093/bioinformatics/btt193
- Kistler, L., Bieker, V. C., Martin, M. D., Pedersen, M. W., Ramos Madrigal, J. & Wales, N., 2020: Ancient plant genomics in archaeology, herbaria, and the environment: Annual review of plant biology 71, 605-629.
- Kress, W. J., 2017: Plant DNA barcodes: Applications today and in the future: Journal of Systematics and Evolution 55, 291-307.
- Kullman, L., 2008: Early postglacial appearance of tree species in northern Scandinavia: Review and perspective: Quaternary Science Reviews 27, 2467-2472.
- Langeveld, B. W., Mol, D., Zazula, G. D., Gravendeel, B., Eurlings, M., McMichael, C. N. H., Groenenberg, D., Van Reenen, G. B. A., Palmeira, M., Vogel, J. & Van Geel, B., 2018: A multidisciplinary study of a late Pleistocene Arctic ground squirrel (*Urocitellus parryi*) midden from Yukon, Canada: Quaternary Research 89, 333-351. doi: 10.1017/qua.2017.93
- Laramie, M. B., Pilliod, D. S. & Goldberg, C. S., 2015: Characterizing the distribution of an endangered salmonid using environmental DNA analysis: Biological Conservation 183, 29-37.
- Mander, L. & Punyasena, S. W., 2014: On the taxonomic resolution of pollen and spore records of Earth's vegetation: International Journal of Plant Sciences 175, 931-945. doi: 10.1086/677680
- Metcalf, J. L., Ursell, L. K. & Knight, R., 2014: Ancient human oral plaque preserves a wealth of biological data: Nature Genetics 46, 321-323.
- Meyer, M., Fu, Q., Aximu-Petri, A., Glocke, I., Nickel, B., Arsuaga, J.-L., Martínez, I., Gracia, A., de Castro, J. M. B. & Carbonell, E., 2014: A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Huesos: Nature 505, 403-406.
- Meyer, M., Kircher, M., Gansauge, M.-T., Li, H., Racimo, F., Mallick, S., Schraiber, J. G., Jay, F., Prüfer, K. & De Filippo, C., 2012: A high-coverage genome sequence from an archaic Denisovan individual: science 338, 222-226.
- Nesje, A., Dahl, S. O., Linge, H., Ballantyne, C. K., Mccarroll, D., Brook, E. J., Raisbeck, G. M. & Yiou, F., 2007: The surface geometry of the last glacial maximum ice sheet in the Andøya-skänland region, northern Norway, constrained by surface exposure dating and clay mineralogy: Boreas 36, 227-239.
- Nota, K., 2022. Palaeoenvironmental reconstructions from modern and ancient plant DNA. Acta Universitatis Upsaliensis.
- Orlando, L., Ginolhac, A., Zhang, G., Froese, D., Albrechtsen, A., Stiller, M., Schubert, M., Cappellini, E., Petersen, B., Moltke, I., Johnson, P. L. F., Fumagalli, M., Vilstrup, J. T., Raghavan, M., Korneliussen, T., Malaspinas, A.-S., Vogt, J., Szklarczyk, D., Kelstrup, C. D., Vinther, J., Dolocan, A., Stenderup, J., Velazquez, A. M. V., Cahill, J., Rasmussen, M., Wang, X., Min, J., Zazula, G. D., Seguin-Orlando, A., Mortensen, C., Magnussen, K., Thompson, J. F., Weinstock, J., Gregersen, K., Røed, K. H., Eisenmann, V., Rubin, C. J., Miller, D. C., Antczak, D. F., Bertelsen, M. F., Brunak, S.,

- Al-Rasheid, K. a. S., Ryder, O., Andersson, L., Mundy, J., Krogh, A., Gilbert, M. T. P., Kjær, K., Sicheritz-Ponten, T., Jensen, L. J., Olsen, J. V., Hofreiter, M., Nielsen, R., Shapiro, B., Wang, J. & Willerslev, E., 2013: Recalibrating equus evolution using the genome sequence of an early middle pleistocene horse: *Nature* 499, 74-78. doi: 10.1038/nature12323
- Parducci, L., Alsos, I. G., Unneberg, P., Pedersen, M. W., Han, L., Lammers, Y., Salonen, J. S., Valiranta, M. M., Slotte, T. & Wohlfarth, B., 2019: Shotgun environmental DNA, pollen, and macrofossil analysis of lateglacial lake sediments from southern sweden: *Frontiers in Ecology and Evolution* 7, 15. doi: 10.3389/fevo.2019.00189
- Parducci, L., Edwards, M. E., Bennett, K. D., Alm, T., Elverland, E., Tollefsrud, M. M., Jørgensen, T., Houmark-Nielsen, M., Larsen, N. K. & Kjær, K. H., 2012a: Response to comment on “glacial survival of boreal trees in northern scandinavia”: *science* 338, 742-742.
- Parducci, L., Jørgensen, T., Tollefsrud, M. M., Elverland, E., Alm, T., Fontana, S. L., Bennett, K. D., Haile, J., Matetovici, I. & Suyama, Y., 2012b: Glacial survival of boreal trees in northern scandinavia: *science* 335, 1083-1086.
- Paus, A., Boessenkool, S., Brochmann, C., Epp, L. S., Fabel, D., Hafliðason, H. & Linge, H., 2015: Lake store finnsjøen—a key for understanding lateglacial/early holocene vegetation and ice sheet dynamics in the central scandes mountains: *Quaternary Science Reviews* 121, 36-51.
- Paus, A., Boessenkool, S., Brochmann, C. & Hafliðason, H., 2014: The late weichselian deglaciation of central scandes; new stratigraphical evidences from laminated lake sediments at dovre, central norway. Lecture Abstract in Proceedings of the 31st Nordic Geological Winter Meeting, 8-10 s.
- Paus, A., Velle, G. & Berge, J., 2011: The lateglacial and early holocene vegetation and environment in the dovre mountains, central norway, as signalled in two lateglacial nunatak lakes: *Quaternary Science Reviews* 30, 1780-1796.
- Paus, A., Velle, G., Larsen, J., Nesje, A. & Lie, Ø., 2006: Lateglacial nunataks in central scandinavia: Biostratigraphical evidence for ice thickness from lake flåfattjønn, tynset, norway: *Quaternary Science Reviews* 25, 1228-1246.
- Poinar, H. N. & Cooper, A., 2000: Ancient DNA: Do it right or not at all: *science* 5482, 416.
- Popescu, S. M., Jimenez-Moreno, G., Klotz, S., Lericolais, G., Guichard, F., Cagatay, M. N., Giosan, L., Calleja, M., Fauquette, S. & Suc, J. P., 2021: Late quaternary vegetation and climate of se europe-nw asia according to pollen records in three offshore cores from the black and marmara seas: *Palaeobiodiversity and Palaeoenvironments* 101, 197-212. doi: 10.1007/s12549-020-00464-x
- Rawlence, N. J., Lowe, D. J., Wood, J. R., Young, J. M., Churchman, G. J., Huang, Y. T. & Cooper, A., 2014: Using palaeoenvironmental DNA to reconstruct past environments: Progress and prospects: *Journal of Quaternary Science* 29, 610-626. doi: 10.1002/jqs.2740
- Sassoubre, L. M., Yamahara, K. M., Gardner, L. D., Block, B. A. & Boehm, A. B., 2016: Quantification of environmental DNA (edna) shedding and decay rates for three marine fish: *Environmental science & technology* 50, 10456-10464.
- Shapiro, B. & Hofreiter, M., 2010: Analysis of ancient human genomes: Using next generation sequencing, 20-fold coverage of the genome of a 4,000-year-old human from greenland has been obtained: *Bioessays* 32, 388-391.
- Shapiro, B. & Hofreiter, M., 2014: A paleogenomic perspective on evolution and gene function: New insights from ancient DNA: *science* 343.
- Staden, R., 1979: A strategy of DNA sequencing employing computer programs: *Nucleic acids research* 6, 2601-2610.
- Stokes, C. R., Corner, G. D., Winsborrow, M. C., Husum, K. & Andreassen, K., 2014: Asynchronous response of marine-terminating outlet glaciers during deglaciation of the fennoscandian ice sheet: *Geology* 42, 455-458.
- Stroeven, A. P., Hättestrand, C., Kleman, J., Heyman, J., Fabel, D., Fredin, O., Goodfellow, B. W., Harbor, J. M., Jansen, J. D. & Olsen, L., 2016: Deglaciation of fennoscandia: *Quaternary Science Reviews* 147, 91-121.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L. & Coissac, E., 2018: *Environmental DNA: For biodiversity research and monitoring*. Oxford University Press.
- Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M. & Rieseberg, L., 2012: *Environmental DNA. Molecular ecology* 21: 1789-1793.
- Thomsen, P. F. & Willerslev, E., 2015: Environmental DNA—an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity: *Biological conservation* 183, 4-18.
- Totland, Ø., 2001: Environment-dependent pollen limitation and selection on floral traits in an alpine species: *Ecology* 82, 2233-2244.
- Vai, S., Amorim, C. E. G., Lari, M. & Caramelli, D., 2020: Kinship determination in archeological contexts through DNA analysis: *Frontiers in Ecology and Evolution* 8, 9. doi: 10.3389/fevo.2020.00083
- Van Der Valk, T., Pečnerová, P., Díez-Del-Molino, D., Bergström, A., Oppenheimer, J., Hartmann, S., Xenikoudakis, G., Thomas, J. A., Dehasque, M., Sağlıcan, E., Fidan, F. R., Barnes, I., Liu, S., Somel, M., Heintzman, P. D., Nikolskiy, P., Shapiro, B., Skoglund, P., Hofreiter, M., Lister, A. M., Götherström, A. & Dalén, L., 2021: Million-year-old DNA sheds light on the genomic history of mammoths: *Nature* 591, 265-269. doi: 10.1038/s41586-021-03224-9
- Vural, H. C., 2009: Quantification and presence of human ancient DNA in burial place remains of turkey using real time polymerase chain reaction: *African Journal of Biotechnology* 8, 5163-5168.
- Willerslev, E., Davison, J., Moora, M., Zobel, M., Coissac, E., Edwards, M. E., Lorenzen, E. D., Vestergård, M., Gussarova, G. & Haile, J., 2014: Fifty thousand years of arctic vegetation and megafaunal diet: *Nature* 506, 47-51.
- Willerslev, E., Hansen, A. J., Binladen, J., Brand, T. B., Gilbert, M. T. P., Shapiro, B., Bunce, M., Wiuf, C., Gilichinsky, D. A. & Cooper, A., 2003: Diverse

- plant and animal genetic records from holocene and pleistocene sediments: *science* 300, 791-795.
- Woodward, S. R., Weyand, N. J. & Bunnell, M., 1994: DNA sequence from cretaceous period bone fragments: *science* 266, 1229-1232. doi: 10.1126/science.7973705
- Xia, Z., Johansson, M. L., Gao, Y., Zhang, L., Haffner, G. D., Macisaac, H. J. & Zhan, A., 2018: Conventional versus real-time quantitative pcr for rare species detection: *Ecology and evolution* 8, 11799-11807.
- Zhou, X., Li, Y., Liu, S., Yang, Q., Su, X., Zhou, L., Tang, M., Fu, R., Li, J. & Huang, Q., 2013: Ultra-deep sequencing enables high-fidelity recovery of biodiversity for bulk arthropod samples without pcr amplification: *Gigascience* 2, 2047-2217X-2042-2044.

**Tidigare skrifter i serien
”Examensarbeten i Geologi vid Lunds
universitet”:**

595. Haag, Vendela, 2020: Studying magmatic systems through chemical analyses on clinopyroxene - a look into the history of the Teno ankaramites, Tenerife. (45 hp)
596. Kryffin, Isidora, 2020: Kan benceller bevaras över miljontals år? (15 hp)
597. Halvarsson, Ellinor, 2020: Sökande efter nedslagskratrar i Sverige, med fokus på avtryck i berggrunden. (15 hp)
598. Jirdén, Elin, 2020: Kustprocesser i Arktis – med en fallstudie på Prins Karls Forland, Svalbard. (15 hp)
599. Chonewicz, Julia, 2020: The Eemian Baltic Sea hydrography and paleoenvironment based on foraminiferal geochemistry. (45 hp)
600. Paradeisis-Stathis, Savvas, 2020: Holocene lake-level changes in the Siljan Lake District – Towards validation of von Post’s drainage scenario. (45 hp)
601. Johansson, Adam, 2020: Groundwater flow modelling to address hydrogeological response of a contaminated site to remediation measures at Hjortsberga, southern Sweden. (15 hp)
602. Barrett, Aodhan, 2020: Major and trace element geochemical analysis of norites in the Hakefjorden Complex to constrain magma source and magma plumbing systems. (45 hp)
603. Lundqvist, Jennie, 2020: ”Man fyller det med information helt enkelt”: en fenomenografisk studie om studenters upplevelse av geologisk tid. (45 hp)
604. Zachén, Gabriel, 2020: Classification of four mesosiderites and implications for their formation. (45 hp)
605. Viðarsdóttir, Halla Margrét, 2020: Assessing the biodiversity crisis within the Triassic-Jurassic boundary interval using redox sensitive trace metals and stable carbon isotope geochemistry. (45 hp)
606. Tan, Brian, 2020: Nordvästra Skånes prekambrika geologiska utveckling. (15 hp)
607. Taxopoulou, Maria Eleni, 2020: Metamorphic micro-textures and mineral assemblages in orthogneisses in NW Skåne – how do they correlate with technical properties? (45 hp)
608. Damber, Maja, 2020: A palaeoecological study of the establishment of beech forest in Söderåsen National Park, southern Sweden. (45 hp)
609. Karastergios, Stylianos, 2020: Characterization of mineral parageneses and metamorphic textures in eclogite- to high-pressure granulite-facies marble at Allmenningen, Roan, western Norway. (45 hp)
610. Lindberg Skutsjö, Love, 2021: Geologiska och hydrogeologiska tolkningar av SkyTEM-data från Vombsänkan, Sjöbo kommun, Skåne. (15 hp)
611. Hertzman, Hanna, 2021: Odensjön - A new varved lake sediment record from southern Sweden. (45 hp)
612. Molin, Emmy, 2021: Rare terrestrial vertebrate remains from the Pliensbachian (Lower Jurassic) Hasle Formation on the Island of Bornholm, Denmark. (45 hp)
613. Höjbert, Karl, 2021: Dendrokronologi - en nyckelmetod för att förstå klimat- och miljöförändringar i Jämtland under holocen. (15 hp)
614. Lundgren Sassner, Lykke, 2021: A Method for Evaluating and Mapping Terrestrial Deposition and Preservation Potential- for Palaeostorm Surge Traces. Remote Mapping of the Coast of Scania, Blekinge and Halland, in Southern Sweden, with a Field Study at Dalköpinge Ängar, Trelleborg. (45 hp)
615. Granbom, Johanna, 2021: En detaljerad undersökning av den mellanordoviciska ”furudalkalkstenen” i Dalarna. (15 hp)
616. Greiff, Johannes, 2021: Oolites from the Arabian platform: Archives for the aftermath of the end-Triassic mass extinction. (45 hp)
617. Ekström, Christian, 2021: Rödfärgade utfällningar i dammanläggningar orsakade av *G. ferruginea* och *L. ochracea* - Problemstatistik och mikrobiella levnadsförutsättningar. (15 hp)
618. Östsjö, Martina, 2021: Geologins betydelse i samhället och ett första steg mot en geopark på Gotland. (15 hp)
619. Westberg, Märta, 2021: The preservation of cells in biomineralized vertebrate tissues of Mesozoic age – examples from a Cretaceous mosasaur (Reptilia, Mosasauridae). (45 hp)
620. Gleisner, Lovisa, 2021: En detaljerad undersökning av kalkstenslager i den mellanordoviciska gullhögenformationen på Billingen i Västergötland. (15 hp)
621. Bonnevier Wallstedt, Ida, 2021: Origin and early evolution of isopods - exploring morphology, ecology and systematics. (15 hp)
622. Selezeneva, Natalia, 2021: Indications for solar storms during the Last Glacial Maximum in the NGRIP ice core. (45 hp)
623. Bakker, Aron, 2021: Geological characterisation of geophysical lineaments as part of the expanded site descriptive model around the planned repository site for

- high-level nuclear waste, Forsmark, Sweden. (45 hp)
624. Sundberg, Oskar, 2021: Jordlagerföljden i Højeådal utifrån nya borrhningar. (15 hp)
625. Sartell, Anna, 2021: The igneous complex of Ekmanfjorden, Svalbard: an integrated field, petrological and geochemical study. (45 hp)
626. Juliusson, Oscar, 2021: Implications of ice-bedrock dynamics at Ullstorp, Scania, southern Sweden. (45 hp)
627. Eng, Simon, 2021: Rödslam i svenska kraftdammar - Problematik och potentiella lösningar. (15 hp)
628. Kervall, Hanna, 2021: Feasibility of Enhanced Geothermal Systems in the Precambrian crystalline basement in SW Scania, Sweden. (45 hp)
629. Smith, Thomas, 2022: Assessing the relationship between hypoxia and life on Earth, and implications for the search for habitable exoplanets. (45 hp)
630. Neumann, Daniel, 2022: En mosasaurie (Reptilia, Mosasauridae) av paleocensk ålder? (15 hp)
631. Svensson, David, 2022: Geofysisk och geologisk tolkning av kritskollors utbredning i Ystadsområdet. (15 hp)
632. Allison, Edward, 2022: Avsättning av Black Carbon i sediment från Odensjön, södra Sverige. (15 hp)
633. Jirdén, Elin, 2022: OSL dating of the Mesolithic site Nilsvikdalen 7, Bjorøy, Norway. (45 hp)
634. Wong, Danny, 2022: GIS-analys av effekten vid stormflod/havsnivåhöjning, Morupstrakten, Halland. (15 hp)
635. Lycke, Björn, 2022: Mikroplast i vattenavsatta sediment. (15 hp)
636. Schönherr, Lara, 2022: Grön fältspat i Varbergskomplexet. (15 hp)
637. Funck, Pontus, 2022: Granens ankomst och etablering i Skandinavien under postglacial tid. (15 hp)
638. Brotzen, Olga M., 2022: Geologiska besöksmål och geoparker som plattform för popularisering av geovetenskap. (15 hp)
639. Lodi, Giulia, 2022: A study of carbon, nitrogen, and biogenic silica concentrations in *Cyperus papyrus*, the sedge dominating the permanent swamp of the Okavango Delta, Botswana, Africa. (45 hp)
640. Nilsson, Sebastian, 2022: PFAS- En sammanfattning av ny forskning, med ett fokus på föroreningskällor, provtagning, analysmetoder och saneringsmetoder. (15 hp)
641. Jägfeldt, Hans, 2022: Molnens påverkan på jordens strålningsbalans och klimatsystem. (15 hp)
642. Sundberg, Melissa, 2022: Paleontologiska egenskaper och syreisotopsutveckling i borrhkärnan Limhamn-2018: Kopplingar till klimatförändringar under yngre krita. (15 hp)
643. Bjeremo, Tim, 2022: A re-investigation of hummocky moraine formed from ice sheet decay using geomorphological and sedimentological evidence in the Vomb area, southern Sweden. (45 hp)
644. Halvarsson, Ellinor, 2022: Structural investigation of ductile deformations across the Frontal Wedge south of Lake Vättern, southern Sweden. (45 hp)
645. Brakebusch, Linus, 2022: Record of the end-Triassic mass extinction in shallow marine carbonates: the Lorüns section (Austria). (45 hp)
646. Wahlquist, Per, 2023: Stratigraphy and palaeoenvironment of the early Jurassic volcanoclastic strata at Djupadalsmölle, central Skåne, Sweden. (45 hp)
647. Gebremedhin, G. Gebreselassie, 2023: U-Pb geochronology of brittle deformation using LA-ICP-MS imaging on calcite veins. (45 hp)
648. Mroczek, Robert, 2023: Petrography of impactites from the Dellen impact structure, Sweden. (45 hp)
649. Gunnarsson, Niklas, 2023: Upper Ordovician stratigraphy of the Stora Sutarve core (Gotland, Sweden) and an assessment of the Hirnantian Isotope Carbon Excursion (HICE) in high-resolution. (45 hp)
650. Cordes, Beatrix, 2023: Vilken ny kunskap ger aDNA-analyser om vegetationsutvecklingen i Nordeuropa under och efter Weichsel-istiden? (15 hp)



LUNDS UNIVERSITET