

En finnmarkings levevilkår: den sterkt truede masimjelten *Oxytropis deflexa* ssp. *norvegica*



Kristine Bakke Westergaard, Geir Arnesen og Inger Greve Alsos

**En finnmarkings levevilkår: den sterkt
truede masimjelten *Oxytropis deflexa* ssp.
*norvegica***

Ecofact rapport: 97

www.ecofact.no

Referanse til rapporten:	Westergaard, K.B., Arnesen, G. og Alsos, I.G. 2011. En finnmarkings levevilkår: den sterkt truede masimjelt <i>Oxytropis deflexa</i> ssp. <i>norvegica</i> . Ecofact rapport 97. 21 s.
Nøkkelord:	Masimjelt, AFLP, bevaringsgenetikk, frøspiring, frøbank
ISSN:	ISSN 1891-5450
ISBN:	978-82-8262-095-6
Oppdragsgiver:	Fylkesmannen i Finnmark
Prosjektleder hos Ecofact AS:	Kristine Bakke Westergaard
Prosjektmedarbeidere:	Geir Arnesen, Inger Greve Alsos (Tromsø Museum)
Kvalitetssikret av:	Geir Arnesen, Inger Greve Alsos (Tromsø Museum)
Forside:	Blomsterstand til masimjelt fotografert i Hábatbákti (Máze) i 2010. Foto: Geir Arnesen

www.ecofact.no

Innhold

1 FORORD	1
2 INTRODUKSJON	2
3 MATERIALE OG METODER.....	7
3.1 INNSAMLING OG SPIRING	7
3.2 GENETISK ANALYSE.....	7
4 RESULTATER	10
4.1 FRØTILSTAND OG SPIRING AV FRØ OG FRØBANK	10
4.2 AFLP ANALYSENE.....	11
5 DISKUSJON	15
5.1 GENETISK VARIASJON OG FRØSPREDNING.....	15
5.2 FRØSPIRING OG FRØBANK	16
5.3 POPULASJONENES STABILITET	17
5.4 KONKLUSJON OG FORVALTNINGSKONSEKVENSER	17
6 LITTERATUR.....	19

1 FORORD

Ecofact Nord AS ble i 2010 gitt oppdraget med å avklare en del forskningsspørsmål i forbindelse med den videre forvaltningen av den svært sjeldne arten masimjelt (EN). Oppdragsgiver var Fylkesmannen i Finnmark, og arbeidet er et ledd i oppfølgingen av handlingsplan for karplanter antatt truet av Alta-Kautokeinoubyggingen. Problemstillingene har fokusert på genetiske forhold i og mellom populasjonene, samt frøsituasjonen for arten.

Etter et vellykket arbeid presenterer vi her godt dokumenterte og interessante resultater av betydning for forvaltningen av arten. Arbeidet vil også bli publisert i et vitenskapelig tidsskrift i nærmeste fremtid.

Vi vil spesielt takke Leidulf Lund ved klimalaboratoriet – Universitetet i Tromsø, for å ha tatt så godt vare på plantene, samt elvebåtfører Johan Eira i Máze for å ha fraktet oss trygt og effektivt til Virdneguika i forbindelse med innsamlingsarbeidet.

Tromsø - 12. mai 2011

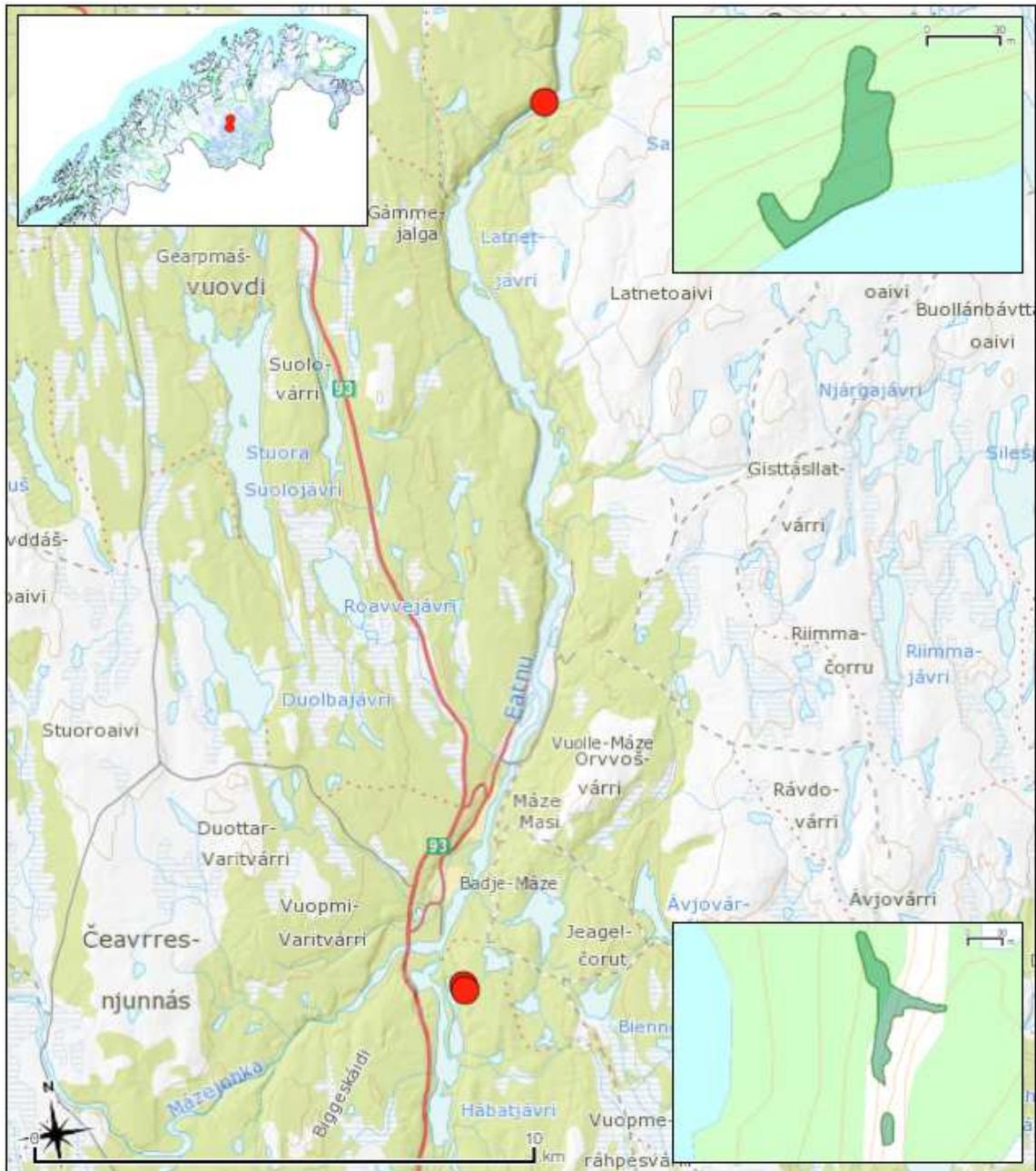
Kristine Bakke Westergaard og Geir Arnesen

2 Introduksjon

Den endemisk norske planten masimjelt *Oxytropis deflexa* ssp. *norvegica* er bare kjent fra to lokaliteter langs Alta-Kautokeinovassdraget i Finnmark: Hábatbákti ca. 3 km sør for Máze, og Virdneguoika ca. 18 km lengre nord (figur 1). På bakgrunn av at de to populasjonene er små, at de har en mulig pågående populasjonsreduksjon, og regnes som truet av tilfeldige og naturlige forstyrrelser, er masimjelt vurdert som sterkt truet (EN) på den norske rødlisten (Kålås med flere 2010). Den er fredet i Norge, og står også oppført på Bernkonvensjonens liste I som en totalfredet art.

Masimjelt er en diploid ($2n=16$; Knaben og Engelskjøn 1967), flerårig urt i erteblomstfamilien *Fabaceae*. Rota er en dyp pelerot, og som andre arter i erteblomstfamilien har masimjelt rotknoller med nitrogenfikserende bakterier. Bladene danner en basal rosett, og hvert blad består av 11-16 par småblad som er tett håret av opprette hår (Elven 2005). Masimjelt har nesten hvite kronblad med fiolette årer, og kun noen få blomster er i rett stadium for pollinering samtidig. Dette, samt at masimjelt er insektpollinert, øker sjansen for krysspollinering. Den får opp mot 10 cm lange fruktstander øverst på høyreiste stengler, hvor belgene er dekket med brune hår, og først er grønne før de blir brunsorte utover høsten. En stor plante kan teoretisk produsere 500-1000 frø (Elvebakk 2006) som spres ved berøring eller vindpåvirkning av stengelen, såkalt tangentballistisk spredning (Nordhagen 1936). De relativt store og tunge frøene er ikke tilpasset langdistansespredning. De er, i likhet med andre arter i slekten, dekket med en tykt frøskall som gjør de relativt motstandsdyktige, og de spirer ikke uten en kraftig ytre påvikning som bryter ned frøskallet (Baskin & Baskin 2001). I følge Thompson med flere (1997) har slekta *Oxytropis* en langlivd frøbank som spirer det meste av sesongen ved de rette forholdene.

Taksonomien innen arten *O. deflexa* er fortsatt ganske uavklart, men fire underarter er akseptert i den panarktiske sjekklisten for karplanter (Elven med flere 2011). Forekomsten av masimjelt i Hábatbákti ble oppdaget allerede i 1883 av botanikeren Johannes Musæus Normann, men ble først beskrevet av den svenske botanikeren Carl Th. Mörner (1926). Mörner var imidlertid ikke klar over at det var en ny art for Europa han hadde funnet, og bestemte planten til reinmjelt *O. lapponica*. Først i 1934 ble de norske plantene sammenlignet med sibirsk materiale av hovedunderarten *O. deflexa* ssp. *deflexa*, og man ble klar over at de norske plantene var morfologisk unike (Nordhagen 1940; se også Nordhagen 1964). Den norske underarten er geografisk adskilt med 80 breddegrader fra de nærmeste forekomstene av de andre underartene, noe som har ført til at botanikere har spekulert på hva som kan forklare denne spesielle utbredelsen. Den andre kjente forekomsten av masimjelt ble oppdaget nesten hundre år senere, i 1981 i Virdneguoika, under undersøkelsene i forbindelse med Alta-Kautokeinoubyggingen (Skifte 1982).



Figur 1. Utbredelsen av masimjelt; lokaliteten Håbatbåkti i sør, og Viridneguoika i nord markert med røde prikker. Småkart viser hver lokalitets utbredelse, og målestokken i småkartene er 30 m.

Masimjelt har svært spesifikke økologiske krav til sitt voksested. Begge forekomstene er på nøytral til basisk grunn med god drenering, og i relativt ustabile miljøer med begrenset konkurranse fra andre planter. Voksestedet i Viridneguoika er i en svært bratt, sørøstvendt, og tildels svært ustabil rasmark av forvitret marmor i en trang kløft (figur 2), mens plantene som vokser i Håbatbåkti står i små kalkrasmarker omringet av vesentlig mer stabil jord i en vestvendt, ikke fullt så bratt li (figur 3).



Figur 2. Masimjeltlokaliteten i Virdneguoika er i en svært bratt og ustabil rasmark. Foto: Geir Arnesen.



Figur 3. Voksestedet for masimjelt i Hábatbákti (mellom skrentene på bildet, og delvis også nedenfor skrentene, spesielt mot venstre) er et mer stabilt område med utabile områder innimellom. Foto: Geir Arnesen.

Klimaet rundt Máze er kontinentalt, med lite nedbør (395 mm/år) og relativt varme sommertemperaturer, noe som trolig er viktige faktorer for masimjelten.

På bakgrunn av økologi og morfologi antas det at masimjelt har utviklet seg i senglacial tid fra steppearten *O. deflexa* ssp. *deflexa* som vokser i Kazakstan, Mongolia og Sibir (Elvebakk 2006, Elven med flere 2011). Det spekuleres i at masimjelt kan ha innvandret til Finnmark like etter siste istid via bresjøene og -elvene

over de da åpne områdene i Nord-Russland, og etablert seg i Finnmark under det mer kontinentale og tørre klimaet som hersket på den tiden (Høiland & Laane 1989). Etter istiden endret klimaet seg til å bli mer oseanisk, og man tror at masimjelt ble stående igjen på noen ytterst få lokaliteter med særegne økologiske forhold som ligner de som var vanlig under det senglasielle klimaet. Man tror at populasjonene i Finnmark så utviklet seg i isolasjon videre til en egen underart.

I forbindelse med "Handlingsplan for karplanter antatt truet av Alta-Kautokeino-utbyggingen" (Arnesen, Westergaard og Aalerud, 2010, utarbeidet men ikke vedtatt) er masimjelt en av fem arter som har fått økt fokus. Handlingsplanen oppsummerer kunnskapsstatus om populasjonene, og gir videre råd om tiltak for å bevare dem på sine nåværende voksesteder. De to populasjonene er små, og det er opp igjennom årene telt mellom 200-2000 reproduserende individer i Virdneguoika, og 300 i Hábatbákti (sistnevnte kun telt én gang; Elvebakk 2006). Tidligere rapporter konkluderer med at masimjelt kan være genetisk utarmet, og det spekuleres i hvorvidt innavl kan være en årsak til aborterende frø og dårlig spiringsevne (Laane & Høiland 1994). Det er også observert at larvestadiet til en ikke navngitt snutebille kan beite så intenst på masimjelten at det kan gå ut over frøproduksjonen (Elvebakk 2006), og det stilles spørsmål til i hvilken grad masimjelt har en spiringsdyktig frøbank. Individene i Hábatbákti har blitt beskrevet som større og mer velutviklede enn de i Virdneguoika (Elvebakk 1984; Geir Arnesen personlig observasjon), noe som kan ha sammenheng med ulike økologiske forhold, eller genetisk særegenhet. Denne ulikheten kan igjen gi seg utslag i forskjeller i reproduksjon og gjennomsnittlig levealder for hvert individ. Det er mulig populasjonen i Virdneguoika oppstod fra noen få frø som ble fraktet nedstrøms med elva fra Hábatbákti, og at en slik 'foundereffekt' kan ha ført til at den har lavere genetisk diversitet enn sin opprinnelse. En annen mulighet er at det ikke har vært genflyt mellom de to populasjonene siden senglasiell tid, og at de derfor kan ha utviklet genetiske særegenheter gjennom genetisk drift og mutasjoner.

Genetisk diversitet er viktig for opprettholdelse av livskraftige populasjoner, og nivået på genetisk diversitet brukes derfor ofte som et mål på populasjoners "helsetilstand" (Frankham 2005; Frankham med flere 2009). For å utarbeide en god bevaringsstrategi for masimjelt er det derfor viktig å kjenne til nivå av genetisk variasjon og særegenhet, kanskje spesielt fordi de to populasjonene potensielt er genetisk særegne på grunn av lang tids isolasjon og få individer. Dersom det er lite seksuell reproduksjon i populasjonene, vil den genetiske diversiteten avta over tid etter hvert som genotyper dør ut. En mulig forvaltningsstrategi for å øke vitaliteten i genetisk utarmede populasjoner er å transplantere individer mellom dem. Dersom populasjonene er genetisk veldig ulike bør man imidlertid være forsiktig med å krysse de, ettersom det kan oppstå utavlsdepresjon som fører til nedsatt vitalitet. Hva som er normalt nivå av genetisk variasjon innen en arts populasjoner er artsavhengig, og man må derfor sammenligne flere populasjoner og ofte også nærstående arter for å danne seg et bilde av hva som er normalt nivå, og hva som kan være kritisk lavt nivå av genetisk variasjon. Det er også viktig å kjenne til naturlige svingninger i individtall, spiringsevne, hvorvidt det finnes en frøbank, og eventuelt hvor viktig den er for opprettholdelsen av

populasjonen. Uten slik informasjon tilgjengelig er det vanskelig å avgjøre hva som truer arten mest, bortsett fra fysiske inngrep og tilfeldige hendelser.

Under utarbeidelsen av det faglige grunnlaget for den nevnte handlingsplanen ble derfor flere forskningstiltak foreslått for å få bedre kunnskap om masimjeltens levevilkår. Arbeidet i denne rapporten er motivert av de foreslåtte forskningstiltakene, og har som mål å besvare følgende spørsmål:

1. Hva er nivået av genetisk variasjon i masimjelt sammenlignet med nærstående arter?
2. Er det genetisk forskjell mellom populasjonene av masimjelt i Hábatbákti og Virdneguoika?
3. Har masimjelt frøbank?
4. Hvordan er spiringsevnen og frøtilstanden til masimjelten?

3 Materiale og metoder

3.1 Innsamling og spiring

Blad- og jordprøver ble samlet inn 29. juli 2010. Bladprøver fra 30 individer fra hver av de to lokalitetene Virdneguoika og Hábatbákti ble samlet inn på silikagel for å sikre at de tørket fort slik at DNA-kvaliteten ikke ble forringet. Førte jordprøver ble samlet i Virdneguoika ved å slå ned et stålrør med 4 cm diameter ca. 3,5 cm ned i bakken. Jordprøvene ble selektivt tatt i forsøkninger og på steder hvor vi antok at frø kunne samle seg opp, spredt ut over hele arealet til populasjonen. En liten del av frøproduksjonen til 17 individer (til sammen 448 frø) i Virdneguoika og 8 individer (til sammen 627 frø) i Hábatbákti ble samlet 3. september 2010, og tilstanden til alle frøene ble vurdert under lupe og klassifisert som normal, innskrunpa eller beita. Kun frø som vi klassifiserte som normale ble brukt til spiretesten. Som utgruppe for de genetiske analysene valgte vi reinmjelt *Oxytropis lapponica*, som vi spirte fra frø samlet i Guolesjavri, Kåfjord kommune.

Frøspiringen ble utført ved Biologisk Klimalaboratorium på Holt (Universitetet i Tromsø). Som spiringssubstrat ble det tilberedt en agargel av 7,5 gram agar-agar (fra Merck) og 0,5 l destillert vann. Agarløsningene ble autoklavert og fordelt i petrisskåler. Frøvekt er vanligvis positivt relatert til spireevne, så fra hver masimjeltpopulasjon ble 4 × 50 normale frø veid før de ble skarifisert, dvs bearbeidet for å få hull på frøskallet. For å teste om det var forskjeller i frøvekt mellom populasjonene ble det gjort en toveis t-test. De første 34 frøene fra Virdneguoika ble forsøkt skarifisert med sandpapir (korn 100), men denne metoden viste seg å fungere dårlig. Derfor gikk vi over til å skarifisere med skalpell under lupe. Frøene ble så fordelt på fire petrisskåler med agarløsning for stratifisering i mørke ved 4°C i 3 dager. Tretti reinmjeltfrø ble skarifisert og lagt på agarløsning i petrisskål for tilsvarende stratifisering. Jordprøvene ble fordelt i hver sin petrisskål med et filterpapir i bunnen (for å sikre jevn fuktighet), før de ble satt til tilsvarende stratifisering som frøene. Etter stratifisering ble alle petrisskåler satt til spiring ved 18°C og 24t kunstig og naturlig lys.

3.2 Genetisk analyse

For å undersøke den i hovedsak nøytrale genetiske diversiteten og særegenheten i de to masimjeltpopulasjonene, benyttet vi DNA-fingeravtrykksmetoden AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). AFLP er et godt valg dersom man ikke har særlig kunnskap om artens genom på forhånd: man får vanligvis ut mange fragmenter, og metoden har god repliserbarhet på laboratoriet. AFLP er basert på at restriksjonsenzymet først kutter DNAet, før et ligeringsenzym deretter limer fast små adaptorer på endene av det kuttete DNAet. Deretter følger en amplifisering av et

utvalg av disse DNA-fragmentene ved hjelp av primere og PCR-reaksjoner (Polymerase Chain Reaction).

En cm² tørket bladmateriale ble knust av kuler i en ristemaskin ved 30 Hz i 1 minutt, og DNA ble ekstrahert med DNAeasyTM Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Tyskland).

AFLP-metoden fulgte samme protokoll som Alsos med flere (2007), men med følgende modifiseringer: alle volum ble doblet for økt stabilitet i analysen, og restriksjon/ligering ble gjort i to separate trinn, hvert på 2 timer ved 37°C. For studiet av masimjelt testet vi tre ulike primerkombinasjoner som tidligere har vært brukt i et studium av markmjelt *Oxytropis campestris* (Schönswetter med flere, 2004; fluoriserende farge i parentes): *EcoRI*-AGC (NED) – *MseI*-CTGA, *EcoRI*-AAG (6FAM) – *MseI*-CTGA og *EcoRI*-ACT (6FAM) – *MseI*-CTGA. Av disse tre valgte vi de to førstnevnte for det videre studiet av masimjelt, fordi de gav tydelige og godt separerte fragmenter. For hvert individ ble 1,5 µl NED- eller 6FAM-merket selektivt PCR-produkt blandet med 0,2 µl intern standard (GeneScan ROX 500, Applied Biosystems) og 11,8 µl HiDi formamid, og kjørt på en ABI PRISM[®] 3130xl kapillær sekvenseringsmaskin (Applied Biosystems; på Universitetssykehuset Nord-Norge, Tromsø). Rådataene ble justert i forhold til den interne standarden i programmet ABI PRISM[®] Genescan versjon 3.7 (Applied Biosystems). Fragmenter med lengde på 50-500 basepar ble scoret i programmet Genographer 1.6 (tilgjengelig på <http://hordeum.oscs.montana.edu/genographer>), og dataene ble eksportert som en binær matrise.

Negative kontrollprøver og replikater fra DNA ekstraksjonene ble inkludert for å kunne oppdage forurensning, og for å kontrollere reproduserbarheten av dataene. Reproduserbarheten ble estimert som gjennomsnittlig antall korrekt reproduserte fragmenter (se Bonin med flere, 2004), og fragmenter med lav reproduserbarhet ble tatt ut før videre analyser ble gjort. Fragmenter som var tilstede eller fraværende i et lite antall individer tilsvarende feilmarginen i datasettet ble dobbeltsjekket, og beholdt dersom de var tydelige. Datasettene ble sjekket for koblede fragmenter ved å bytte plass på individer og fragmenter i matrisen, og lage et Neighbour-joining (NJ) tre basert på Simple Matching som avstandskoeffisient i programmet Treecon versjon 1.3b (Van de Peer & De Wachter, 1997).

For å studere slektskapet mellom de analyserte individene, ble en NJ-analyse av de 46 masimjeltindividene og de 4 reinmjeltindividene (utgruppearten) basert på Nei og Lis genetiske distanse (1979) utført og 'bootstrapped' (1000 permuteringer) ved hjelp av Treecon versjon 1.3b (Van de Peer & De Wachter, 1997). For å visualisere likhetene og forskjellene mellom AFLP fenotypene utførte vi videre en ordinasjonsanalyse av datasettet (Principal Coordinates Analyse; PCoA) i programmet NTSYS-pc (Rohlf, 1999). Vi brukte Dices likhetskoeffisient, og kalkulerte matriser av parvise forskjeller, og alle AFLP fenotypenes hovedkoordinater langs de tre første aksene.

Differensiering mellom populasjonene ble estimert i en analyse av molekylær varians (AMOVA) i programmet Arlequin 3.11 (Excoffier med flere, 2007; tilgjengelig på

<http://cmpg.unibe.ch/software/Arlequin3>). Neis genetiske diversitet (D) ble estimert som gjennomsnittlig antall parvise forskjeller mellom individer for hver populasjon (Kosman 2003). Det forventes at sjeldne fragmenter akkumuleres i populasjoner som har vært isolerte over lang tid, så private fragmenter eksklusive for én populasjon ble telt. For å unngå og sette en tilfeldig grense for hvorvidt et fragment er sjelden eller ikke, regnet vi ut 'frequency down-weighted' verdier (DW) som et mål på en populasjons genetiske særegenhet (Schönswetter & Tribsch, 2005). For hver populasjon ble en relativ verdi på fragmentenes tilstedeværelse regnet ut, før alle verdiene ble summert til en indeks på genetisk særegenhet for denne populasjonen. DW-verdien vil være høy i en populasjon som har et høyt antall sjeldne fragmenter, og verdien er uavhengig av antall prøver per populasjon. Alle disse utregningene ble utført ved å bruke AFLPdat (Ehrich, 2006) i R 2.7.2 (R Team 2007).

4 Resultater

4.1 Frøtilstand og spiring av frø og frøbank

De aller fleste frøene som ble samlet inn og sett på under lupe, virket normale (tabell 1). Av frøene fra Virdneguoika var en høy andel (18,5%) tydelig beita på, mens en mye mindre andel av frøene fra Hábatbákti var beita på (3,5 %). En lav andel av frøene fra begge populasjonene var innskrunpa (henholdsvis 6 % og 2,9 %).

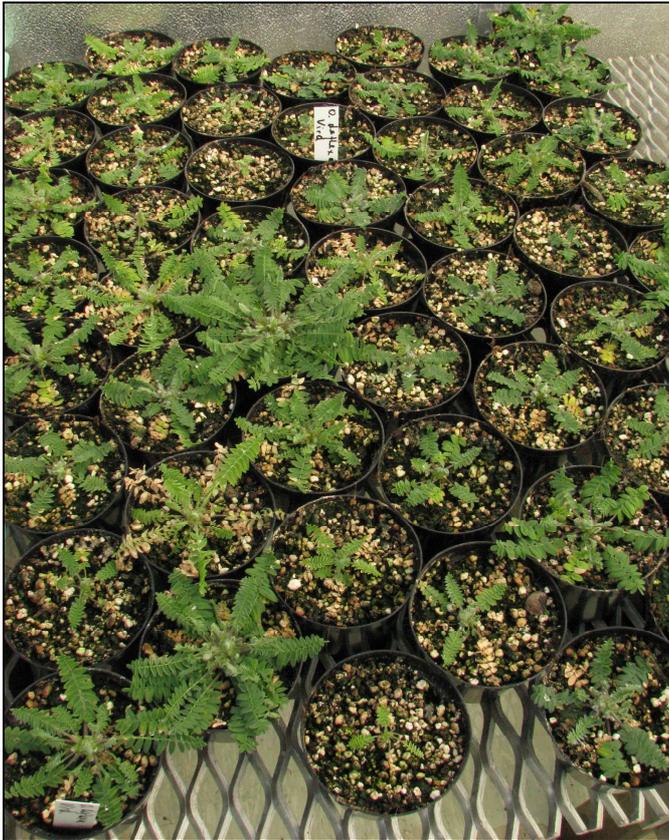
De normale frøene som ble brukt til spiring veide ca. 0,05 g (50 frø), og det var ingen signifikant forskjell mellom lokalitetene ($p = 0,40$). Skarifiseringen av frøene før spiring viste seg å være svært effektiv: 98 % av frøene fra Virdneguoika og 99,5 % av frøene fra Hábatbákti spirte etter kun tre dager (figur 4), og de få frøene som ikke spirte var mest sannsynlig skarifisert for mye (ødelagt embryo). I to av de 40 jordprøvene spirte ett masimjeltfrø. De påfølgende tre månedene utviklet de aller fleste småplantene livskraftige rosetter (figur 5).

Tabell 1. Frøvekt (gram) og tilstanden til masimjeltens frø (prosent). Vi testet kun spireevnen til 4×50 frø som var klassifisert som normale.

Populasjon	Frøvekt (50 frø)	Innskrunpa	Beita	Normale	Spirte	Totalt antall frø
Virdneguoika	0,048 ± 0,003	6 %	18,5 %	75,5 %	98 %	448
Hábatbákti	0,050 ± 0,000	2,9 %	3,5 %	93,6 %	99,5 %	627



Figur 4. En av petrisskålene med 50 masimjeltfrø som har spirt etter tre dager. Foto: Leidulf Lund.



Figur 5. Tre måneder gamle rosetter fra Hábatbákti til venstre, og Virdneguoika til høyre. Foto: Kristine Bakke Westergaard.

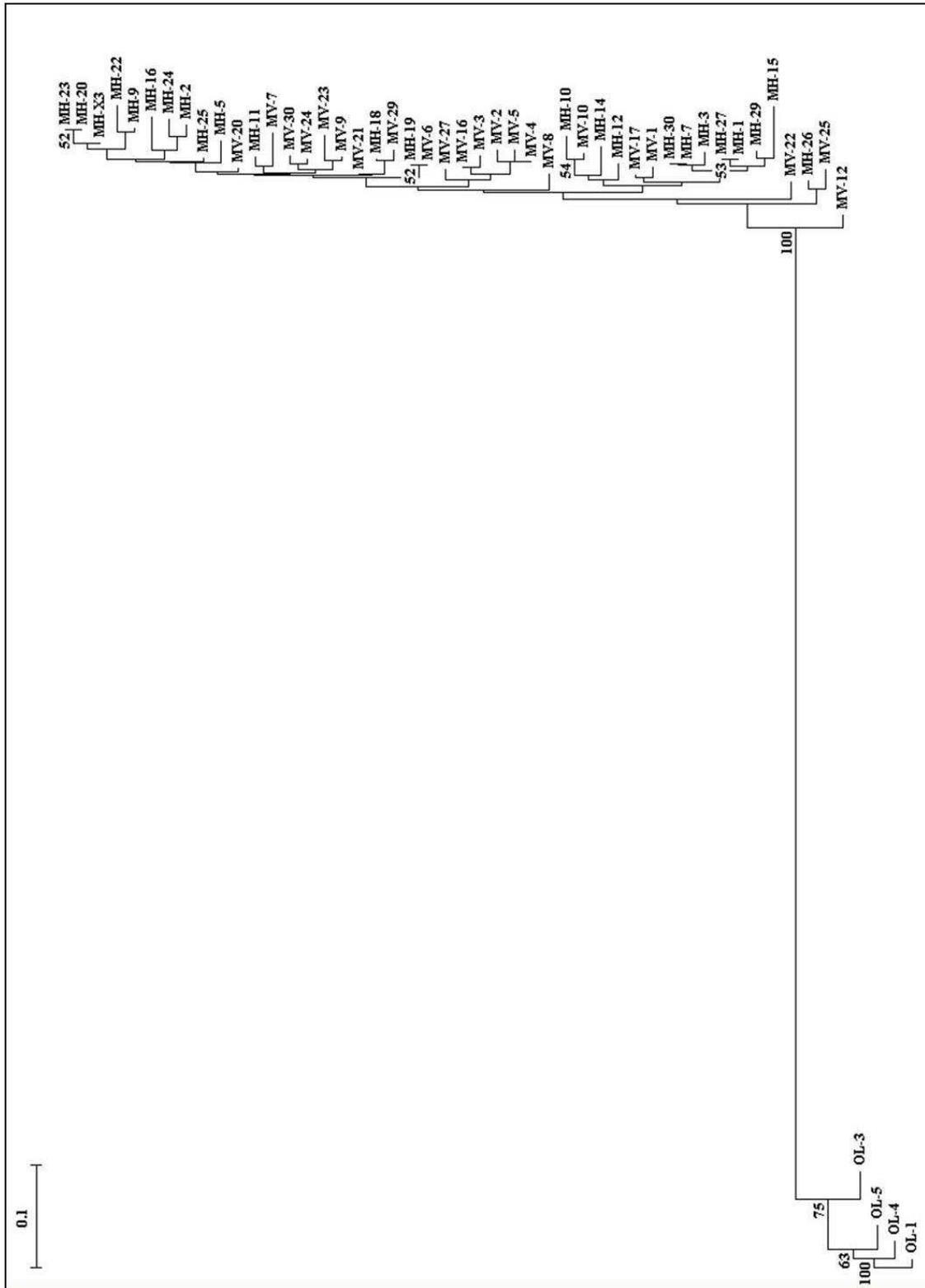
4.2 AFLP analysene

Av de 60 bladprøvene som ble samlet inn, fikk vi opp brukbare AFLP fragmenter fra 24 individer fra Virdneguoika, og 26 individer fra Hábatbákti, hvorav to av individene i hver populasjon var inkludert som positive replikater av både DNA-ekstrahering og AFLP analysen. I tillegg fikk vi opp brukbare AFLP fragmenter fra fire reinmjeltindivider som her fungerer som en utgruppe. De resterende 10 prøvene kunne ikke brukes fordi de viste et for dårlig resultat til å kunne tolkes tilfredsstillende.

De to primerkombinasjonene resulterte i et endelig datasett med 95 AFLP fragmenter som ikke var linket, hvorav 13 ble fjernet fordi de ikke lot seg reproducere tilfredsstillende. Basert på de fire replikatene ble reproduserbarheten av AFLP metoden beregnet til å være 97,07%. Alle fragmenter som kun var tilstede eller fraværende i et antall individer som tilsvarer nivået av denne reproduserbarheten (< 2) ble dobbeltsjekket, og alle ble beholdt fordi de framstod som entydige. Av de 82 fragmentene som gjenstod, var 22 monomorfe (tilstede i alle individer) for både masi- og reinmjelt, 27 var monomorfe for masimjelt, og 12 var monomorfe for reinmjelt. Nitten fragmenter (23,17 %) var polymorfe for masimjelt, mens reinmjelt hadde fire polymorfe fragmenter.

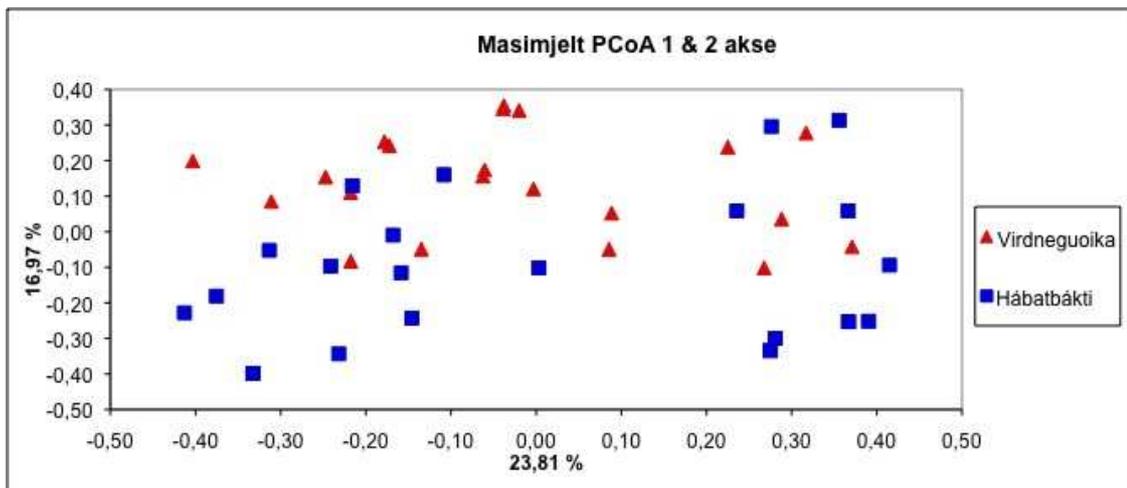
NJ-treet (figur 6) og PCoA plottene (figur 7) visualiserer likheter og forskjeller i de genetiske dataene, og viser at den genetiske variasjonen i hver av de to populasjonene av masimjelt overlapper. Plottene viser også at den samlede genetiske diversiteten i begge populasjonene er større enn den vi finner i hver av de. De tre første aksene forklarer henholdsvis 23,81 %, 16,97 % og 11,53 % av den genetiske variasjonen, noe som er store deler av den totale genetiske variasjonen som finnes i masimjelt.

En toveis AMOVA av populasjonene viste at det aller meste av genetisk variasjon ble funnet innen populasjonene (86,62 %), mens bare 13,38 % variasjon ble funnet mellom populasjonene.

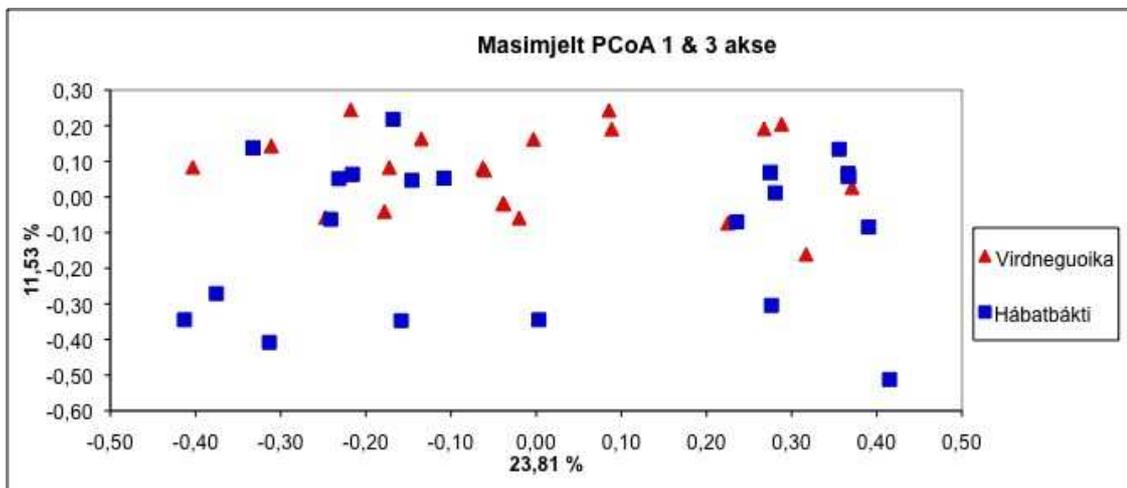


Figur 6. Neighbour-Joining tre av 46 individer masimjelt *Oxytropis deflexa* ssp. *norvegica* (MV = Virdneguoika, MH = Håbatbåkti) og 4 individer fra utgruppearten reinmjelt *Oxytropis lapponica* (OL). Bootstrapverdier over 50% er vist.

a)



b)



Figur 7. PCoA plott av 46 individer masimjelt *Oxytropis deflexa* ssp. *norvegica* basert på 19 polymorfe AFLP fragmenter og Dice likhetskoeffisient: a) første og andre akse, b) første og tredje akse.

Neis genetiske diversitet (D) for masimjelt var 0,26, men verdien var litt ulik i de to populasjonene: i Virdneguoika var verdien 0,22, mens den var 0,26 i Håbatbákti. Som et mål på genetisk særegenhet viste 'frequency down-weighted' verdiene (DW) at begge populasjonene hadde lave verdier (Virdneguoika: 0,47; Håbatbákti: 0,36). Av de 19 polymorfe AFLP fragmentene var to kun tilstede i Virdneguoika, og én var kun tilstede i Håbatbákti. De 24 individene fra Håbatbákti utgjorde til sammen 21 AFLP fenotyper, mens alle de 22 individene fra Virdneguoika var genetisk unike. Reinmjelt hadde en D -verdi på 0,58, og de fire individene var genetisk unike.

5 DISKUSJON

5.1 Genetisk variasjon og frøspredning

Nivået av genetisk variasjon i masimjelt målt med AFLP fragmenter er relativt lavt, men langt ifra veldig lavt tatt i betraktning at arten er endemisk og sjelden. Sjeldne, endemiske arter med svært liten utbredelse har vanligvis lav genetisk variasjon sammenlignet med beslektede arter som har en videre utbredelse (Gitzendanner & Soltis 2000, Hamrick & Godt 1996). Sammenlignet med den nærstående, men vidt utbredte arten markmjelt *O. campestris*, hvor det ble funnet hele 95,8 % polymorfe AFLP fragmenter (Schönswetter med flere, 2004), har masimjelt bare 23,17 % polymorfe fragmenter. Utgruppearten reinmjelt hadde en svært høy *D*-verdi (0,58), men den er basert på kun fire polymorfe fragmenter, mens masimjeltens *D*-verdi på 0,26 er høy sammenlignet med *D*-verdiene tidligere publisert for 19 vidt utbredte arktisk-alpine og boreale planter, som varierte fra 0,001 (fjellskrinneblom *Arabis alpina*) til 0,182 (einer *Juniperus communis*; Westergaard med flere 2008). I en AFLP-undersøkelse av en endemisk og truet amerikansk varietet av markmjelten (*O. campestris* var. *chartacea*), som ble sammenlignet med flere andre varieteter av arten, viste også at var. *chartacea* hadde relativt høy genetisk diversitet fordelt mellom sine totalt seks populasjoner (Chung med flere 2004). Dette funnet ble forklart med at var. *chartacea* muligens er obligat utkryssende, er flerårig, har en langlivd frøbank, og er insektpollinert – trekk som i høy grad er felles med masimjelt, og som også kan forklare masimjeltens noe uforventede høye genetiske diversitet.

Masimjelt er fredet som art, og resultatene av AFLP analysene viser at det er like viktig å ta vare på begge lokalitetene. Resultatene viser at det er mer genetisk diversitet til sammen i de to populasjonene enn det er i hver av dem. I PCoA plottene (figur 7) er den genetiske variasjonen i de to populasjonene i stor grad overlappende, og bortsett fra to AFLP fragmenter som kun var tilstede (private) i Virdneguoika, og én i Hábatbákti, er det ikke mulig å skille de to populasjonene fra hverandre. Dette funnet støttes videre av resultatene fra AMOVA analysen, hvor bare 13,38 % av den genetiske variasjonen i masimjelten ble funnet mellom de to populasjonene.

Dersom de to populasjonene hadde vært separert siden senglacial tid, så ville vi forventet at genetisk drift hadde ført til at de ble genetisk ulike. Videre, dersom populasjonen i Virdneguoika ble etablert som resultat av en eller noen få spredningshendelser nedstrøms i Alta-Kautokeinovassdraget fra Hábatbákti, ville vi forventet en foundereffekt, altså at populasjonen i Virdneguoika skulle inneha kun et utvalg av den genetiske diversiteten vi finner i Hábatbákti. Dette er heller ikke tilfelle, så da kan vi med større sannsynlighet utelukke både at de to populasjonene har vært reproduktivt isolerte siden senglacial tid, og også at det kun skjer en enveis spredning nedstrøms fra Hábatbákti til Virdneguoika.

Mangelen på en sterkere genetisk adskillelse av de to populasjonene stemmer overens med hva man forventer dersom: 1) to populasjoner nylig er etablerte fra en felles kildepopulasjon, eller 2) det er jevnlig genflyt mellom dem. I masimjeltens tilfelle er det ikke særlig nærliggende å anta at de to populasjonene har en nylig opprinnelse fra en felles kildepopulasjon, spesielt fordi det ikke er kjent noen andre populasjoner. Det mest nærliggende er derfor å anta at det er jevnlig genflyt mellom populasjonene.

Spredning kan i masimjeltens tilfelle enten skje ved at pollen spres med insekter som besøker begge populasjonene, noe som er lite sannsynlig over en såpass stor avstand som 18 km, eller ved at frø spres. Selv om masimjeltens frø er relativt tunge, og frøspredningen antas å i hovedsak være lokal innen populasjonene, så er det mulig at frøene enten spres med fugl, med vann nedstrøms Alta-Kautokeinoelva, eller at de spres med vind over snø og is eller fugl både oppstrøms og nedstrøms elva om vinteren. Det er uvanlig at man ikke finner genetisk struktur mellom disjunkte populasjoner av utkryssende arter over slike avstander, men det ble for eksempel heller ikke funnet noen genetisk struktur i en 1,5 km kontinuerlig populasjon av aurskrinneblom *Arabidopsis lyrata* langs elva Visa (Spiterstulen, Norge; Lundemo med flere 2010). I en meta-analyse av studier som har undersøkt genetisk struktur i planter langs elver ble det heller ikke funnet noen støtte for at spredning i hovedsak skjer nedstrøms (Honnay med flere 2010). Dette kan tyde på at spredning både oppstrøms og nedstrøms elver er vanlig i flere plantearter.

5.2 Frøspiring og frøbank

Frøene spirte svært rask etter skarifisering med skalpell, men også de to naturlig slitte frøene i jordprøvene spirte raskt. Det er veldig sjelden man oppnår en så høy spireprosent, spesielt for en sjelden art. Til sammenligning var det ingen av de 20 subarktiske artene inkludert i et studium fra Abisko, Nord-Sverige, som nådde like høy spireprosent (Milbau med flere 2009). I et studium av spireevnen til Svalbardplanter fant man at 13 av 79 arter hadde veldig høy spireevne, hvorav to er sjeldne på Svalbard (trillingsiv *Juncus albescens* og islandsstarr *Carex krausei*, med henholdsvis 94 % og 67 % spirte frø; Alsos med flere 2011). For masimjeltens må man være oppmerksom på at den høye spireprosenten kan være en positiv effekt av skarifiseringen ("keisersnittet") vi gav frøene, og at den høye andelen spirte frø derfor kan være overdrevet i forhold til frø som spirer i naturen etter naturlig slitasje.

Den gode veksten på spirene i klimalaboratoriet viser at under gode sommerforhold vil masimjeltens småspirer kunne vokse til livskraftige rosetter i løpet av to måneder. Disse kan i prinsippet være store nok til å blomstre, men masimjeltens overvintrer vanligvis det første året i rosettstadiet, og produserer ikke blomster eller frukter før neste år (i likhet med fjellvalmue *Papaver radicum*; Nordal med flere 1997). Hver sesong med produktiv frøsetting vil bidra til masimjeltens frøbank, og også øke sjansen for at noen småplanter vil vokse opp. Dette betyr at eldre individer med stor frøsetting er viktige for å opprettholde populasjonene, og at det å ha en frøbank kan sees på som en forsikring for år med lavere reproduksjonssuksess. Levealderen til

frøene i frøbanken er vanskelig å estimere, men selv om individtallene i populasjonene kan variere fra år til år, har de okkupert sine lokaliteter i nokså lang tid; ved Hábatbákti i minst 130 år og sannsynligvis helt siden isen trakk seg tilbake etter siste istid.

5.3 Populasjonenes stabilitet

Masimjelten er en flerårig, men ikke særlig langlivet plante. Foreløpige observasjoner antyder at individene oftest ikke blir eldre enn 10 år (Elvebakk 2006). Dens bestandsutvikling ved lokaliteten i Virdneguoika har til en viss grad vært registrert de siste 30 årene, og det har blitt registrert ganske store fluktuasjoner i individtall, med mellom 200-2000 reproduserende individer (Elvebakk 2006). I 2010 ble individtallet estimert til å være mellom 5000-10000 individer, hvorav enormt mange var unge individer som trolig hadde spirt samme år (G. Arnesen, personlig observasjon). Slike store svingninger i individantallet gjør at antallet reproduserende individer kan variere mye fra år til år, noe som igjen påvirker frøproduksjonen og spredningspotensialet.

I Hábatbákti ble det i 2010 telt rundt 200-300 individer, hvorav få var unge (G. Arnesen, personlig observasjon). Dette individtallet er ikke så ulikt det antallet individer som ble telt i 1983 (Elvebakk 1984), noe som kan tyde på at populasjonen i Hábatbákti er ganske stabil.

5.4 Konklusjon og forvaltningskonsekvenser

De genetiske resultatene tyder på at det må være genflyt over de 18 km mellom de to masimjeltpopulasjonene, og vi antar at spredningen i hovedsak skjer med frø. Frøproduksjonen til masimjelten varierer fra år til år, men vi har påvist at den har en høy spiringsevne og en spiringsdyktig frøbank. Disse resultatene viser at den sjeldne masimjelten tross alt har et spredningspotensiale, og at dersom det er flere egnede habitat i nærheten av de to populasjonene, så bør masimjelten kunne etablere seg der.

Prinsipielt for arter som bare har to populasjoner er at man bør bevare de *ex situ* i en eller flere botaniske hager. Ved *ex situ* bevaring av en genetisk variert art som masimjelt må man være klar over at man bare tar vare på en liten del av den genetiske variasjonen (Mørkved, Alsos og Westergaard *in prep*). Fordi masimjelt har god frøproduksjon, høy spireevne, og tilsynelatende god frølagringsevne, så er det mulighet for å ta vare på en større andel av den genetiske variasjonen dersom man i tillegg til å oppbevare den *ex situ* i botaniske hager, også oppbevarer den i frøbank.

Vår anbefaling for videre forvaltning av masimjelt er at habitatene til de to populasjonene i Finnmark bevares slik de framstår i dag, og at levende planter fra begge populasjonene oppbevares *ex situ* i botaniske hager som arktisk-alpin botanisk hage i Tromsø (Tromsø Museum, Universitetet i Tromsø). Videre er det viktig at frø vil bli oppbevart i frøbanken i Botanisk hage i Oslo (Naturhistorisk Museum, Universitetet i Oslo), men det må sjekkes for spiringsdyktighet med jevne mellomrom

av disse frøene (for eksempel etter 1,5 og 10 år). Vi har tatt vare på alle normale frø som er til overs fra innsamlingen vi gjorde, og disse er avtalt avlevert til denne frøbanken. Det vil også være viktig å søke etter ukjente populasjoner langs Alta-Kautokeinovassdraget da dette området er relativt dårlig kjent.

6 LITTERATUR

- Alsos I.G., Eidesen P.B., Ehrich D., Skrede I., Westergaard K., Jacobsen G.H., Landvik J.Y., Taberlet P. & Brochmann C. 2007. Frequent long-distance plant colonization in the changing Arctic. *Science* 316: 1606-1609.
- Alsos I.G., Müller E. & Eidesen P.B. 2011. Svalbardfrø i Svalbard Globale Frøhvelv. Sluttrapport til Svalbards Miljøvernfond, 23 s.
<http://www.sysselmannen.no/hoved.aspx?m=45704&amid=3181211>.
- Arnesen G., Westergaard K.B. & Aalerud C. 2010. Handlingsplan for karplanter antatt truet av Alta – Kautokeino utbyggingen. Masimjelt (CR), grårublomst (EN), finnmarksjonsokblomst (CR), kveinhavre (CR) og finntelg (CR). Fylkesmannen i Finnmark. Utarbeidet, ikke vedtatt.
- Baskin C.C. & Baskin J.M. 2001. *Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, London, 666 s.
- Bonin A., Bellemain E., Eidesen P.B., Pompanon F., Brochmann C. & Taberlet P. 2004. How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. *Molecular Ecology* 13: 3261-3273.
- Chung M., Gelembiuk G. & Givnish T.J. 2004. Population genetics and phylogeography of endangered *Oxytropis campestris* var. *chartacea* and relatives: arctic-alpine disjuncts in eastern North America. *Molecular Ecology* 13: 3657-3673.
- Ehrich D. 2006. AFLPdat: a collection of R functions for convenient handling of AFLP data. *Molecular Ecology Notes* 6: 603-604.
- Elvebakk A. 1984. Flora og vegetasjon i utbyggingsområdet ved Alta-Kautokeinovassdraget. I. Økologi, innvandringshistorie og bestandsstatus for masimjelt (*Oxytropis deflexa* ssp. *norvegica*). *Tromura* 42.
- Elvebakk A. 2006. Status for populasjonen av masimjelt (*Oxytropis deflexa* spp. *norvegica*) i Virdneuoika – september 2006. Rapport til Statkraft, 4s.
- Elven R. (red.) 2005. J. Lid & D.T. Lid. *Norsk flora*. 7. utgave. Det Norske Samlaget, Oslo.
- Elven R., Murray D.F., Razzhivin V. & Yurtsev B.A. 2011. Annotated Checklist of the Panarctic Flora (PAF) Vascular plants. Naturhistorisk Museum, Universitetet i Oslo.
- Excoffier L., Laval G, Schneider S. 2007. Arlequin ver. 3.11. An Integrated Software Package for Population Genetics. Computational and Molecular Population Genetics lab (CMPG), Institute of Zoology, University of Bern, Bern.

- Frankham R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126: 131-140.
- Frankham, R., Ballou, J.D. & Briscoe, D.A. 2009. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Gitzendanner M.A. & Soltis P.S. 2000. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. *American Journal of Botany* 87: 783-792.
- Hamrick J.L. & Godt M.J.W. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B – Biological Sciences* 351: 1291-1298.
- Honnay O., Jacquemyn H., Nackaerts K., Breyne P. & Van Looy K. 2010. Patterns of population genetic diversity and aquatic plant species along rivers. *Journal of Biogeography* 37: 1730-1739.
- Høiland K. & Laane M.M. 1989. Flower substances in the extremely disjunct species *Oxytropis deflexa* and their phylogeographical implications. *Canadian Journal of Botany* 67: 218-224.
- Knaben G. & Engelskjøn T. 1967. Chromosome numbers of Scandinavian arctic-alpine plant species II. *Acta Borealia A. Scientia* 21: 1-57.
- Kosman E. 2003. Nei's genetic diversity and the index of average differences are identical measures of diversity within populations. *Plant Pathology* 52: 533-535.
- Kålås J.A., Viken Å., Henriksen S. & Skjelseth S. (red.) 2010. Norsk rødliste for arter 2010. Artsdatabanken, Norge.
- Laane M.M. & Høiland K. 1994. Masivedel, en endem från postglacial tid. *Svensk Botanisk Tidsskrift* 88: 199-212.
- Lundemo S., Stenøien H.K. & Savolainen O. 2010. Investigating the effects of topography and clonality on genetic structuring within a large Norwegian population of *Arabidopsis lyrata*. *Annals of Botany* 106: 243-254.
- Milbau A., Graae B.J., Shevtsova A. & Nijs I. 2009. Effects of a warmer climate on seed germination in the subarctic. *Annals of Botany* 104: 287-296.
- Mörner C.T. 1926. Expose över *Oxytropis deflexa* Pall. som skandinavisk växt. *Svensk Botanisk Tidsskrift* 20: 345-351.
- Mørkved B., Alsos I.G. & Westergaard K.B. Genetisk variasjon i gammelt materiale av hjelm i norske hager. *In prep.*
- Nei M. & Li W.-H. 1979. Mathematical modell for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 76: 5269-5273.

- Nordal I., Hestmark G. & Solstad H. 1997. Reproductive biology and demography of *Papaver radicum* – A key species in Norwegian plant geography. *Op. Bot.* 132: 77-87.
- Nordhagen R. 1936. Verbreitungsbiologische Studien über einige *Astragalus*- und *Oxytropis* arten der Skandinavischen Flora. *Vericht der Schweizerische botanische Gesellschaft* 46: 307-337.
- Nordhagen R. 1940. *Norsk flora*. Oslo. 766 s.
- Nordhagen R. 1964. Om *Oxytropis lapponica* (WG.) Gaud. og *O. deflexa* (Pall.) DC. subsp. *norvegica* Nordh. *Svensk Botanisk Tidskrift* 58: 129–166.
- R Development Core Team 2007. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Wien.
- Rohlf F. 1999. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Software, New York.
- Schönswetter P. & Tribsch A. 2005. Vicariance and dispersal in the alpine perennial *Bupleurum stellatum* L. (Apiaceae). *Taxon* 54: 725-732.
- Schönswetter P., Tribsch A. & Niklfeld H. 2004. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) reveals no genetic divergence of the Eastern Alpine endemic *Oxytropis campestris* ssp. *tiroliensis* (Fabaceae) from widespread subsp. *campestris*. *Plant Systematics and Evolution* 244: 245-255.
- Skifte O. 1982. Masimjelt (*Oxytropis deflexa* (Pall.) DC subsp. *norvegica* Nordh.) funnet på en ny plass ved Altavassdraget. *Blyttia* 40: 237-242.
- Thompson K., Bakker J.P. & Bekker R.M. 1997. The soil seed banks of North West Europe: methodology, density and longevity. Cambridge University Press, Cambridge.
- Van de Peer Y. & De Wachter R. 1997. Construction of evolutionary distance trees with Treecon for Windows: accounting for variation in nucleotide substitution rate among sites. *Computer Applications in the Biosciences* 13: 227-230.
- Westergaard K.B., Alsos I.G., Ehrich D., Eidesen P.B., Hollingsworth P.M. & Brochmann C. 2008. Genetic diversity and distinctiveness in Scottish alpine plants. *Plant Ecology & Diversity* 1: 329-338.