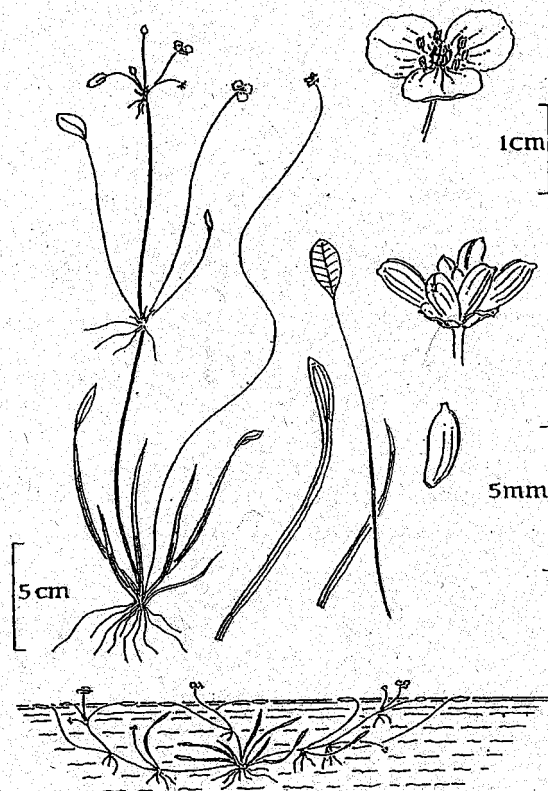


Genetisk variation i populationer av flytsvalting, *Luronium natans*



Tomas Bryngelsson och Mats Gustafsson
Institutionen för Växtvetenskap
SLU, Box 44, 230 53 Alnarp

Innehåll

Bakgrund	2
Inledning	2
Flytsvaltingen morfologi	2
Utbredning, ekologi och biologi	2
Beståndsinventering	3
Det svenska beståndet av flytsvalting	4
Syftet med undersökningen	4
Molekylära genetiska markörer	5
Material och metoder	5
Resultat	10
Sammanfattning av resultaten och diskussion	13
Synpunkter på bevarandestrategi	14
Referenser	14

Bakgrund

I samband med framtagande av ett åtgärdsprogram för bevarande av flytsvalting fick Tomas Bryngelsson år 2004 i uppdrag av naturvårdsenheten, Länsstyrelsen i Halland att undersöka den genetiska variationen mellan och inom populationer av flytsvalting från de svenska lokalerna. Insamling av material för dessa studier gjordes av Mats Gustafsson i samband med en beståndsinventering under hösten 2004. I föreliggande rapport redogörs för de molekylära arbetena samt på vilket material de har baserats.

Inledning

Flytsvaltningens morfologi

Flytsvalting (*Luronium natans*) tillhör familjen svaltingväxter (Alismataceae) och klassen enhjärtbladiga växter. Den är en flerårig, kal vattenlevande ört, med kort jordstam och smala krypande, rotsläende stjälkar med bleka fjäll. Undervattensbladen sitter i rosett, är lineära och saknar skiva. Flytbladen är långskaftade, 1-2 cm långa och äggrunda. De ensamma centimeterstora blommorna, som flyter på vattenytan, är hermafrodita och sitter på långa skaft som utgår från högbladsveckan. Blommorna har tre foderblad, tre kronblad, sex ståndare och sex till tio pistiller. Kronbladen är vita med en gul fläck vid basen. Frukterna (nötterna) sitter samlade i en krans på det platta blomfästet.

Flytsvaltningen blommar från mitten av juni till augusti. Två livsformer har beskrivits, nämligen f. *repens* med flytblad och f. *submersum* som endast har lineära undervattensblad (de Wit 1964). Om flytblad bildas eller inte beror sannolikt på de rådande ståndortsfaktorerna snarare än att vara genetiskt betingat. Flytsvaltningen skiljer sig från andra svaltingarter genom att de långskaftade blommorna utgår från de rotsläende lederna av en fin, krypande stjälk.

Utbredning, ekologi och biologi

Flytsvalting är en europeisk art med tyngdpunkten av utbredningen i Frankrike, Belgien, Holland och nordvästra Tyskland. I Norden finns flytsvalting i Danmark (Jyllands västkust), i Sverige (sydvästra Götaland) samt i Norge (Oslo-trakten). I Sverige förekommer flytsvalting i tre landskap, Skåne, Halland och Småland. Den Skånska lokalen, Rammsjöstrand på Bjärehalvön, har varit känd sedan 1783. I Rammsjöstrand finns fem subpopulationer med en årsvis variation i antal blommande individ, från sammanlagt cirka 1500 år 1989 till endast ett tiotal år 1993. I Halland upptäcktes år 1988 en livskraftig population av flytsvalting i en sjö i Falkenberg kommun och senare hittades arten på ytterliggare en lokal i närheten. Den halländska förekomsten kan alltså delas upp i två populationer. På 1990-talet påträffades ett litet bestånd av flytsvalting i en sjö söder om Ljungby i Småland. Beståndet tycks vara livskraftigt eftersom flytsvaltningen har observerats på lokalen

varje år sedan upptäckten. Dessutom har tillfälliga fynd gjorts i Värmland, i Dalsland och i Halland.

I Norden tycks arten ha en bred ekologisk amplitud. Den förekommer både i mindre klarvattens- och brunvattenssjöar samt i kustnära gölar. Flytsvaltingen tycks kunna tåla stora variationer i vattendjup och vattenstånd. Den är periodiskt uppträdande och blommar inte alla år. Blomningstiden tycks variera på de svenska lokalerna. På den skånska lokalen börjar flytsvaltingen vanligtvis blomma redan före midsommar, men på den halländska och småländska lokalen företrädesvis först under högsommaren (juli-augusti). Förökningen kan ske med frö, men troligen är vegetativ förökning med bladrosetter vanligt förekommande.

Flytsvaltingen tycks vara en av Europas sällsyntaste och mest hotade vattenväxter. I Danmark tycks arten minska, i Norge är den kategoriserad på rödlistan som "direkte truet", det vill säga starkt hotad och i Sverige är arten fridlyst och klassad som starkt hotad (EN).

Beståndsinventering

Förekomsten av flytsvalting på de fyra kända lokalerna undersöktes år 2004. Hängasjön i Kronobergs län, inventerades av Bertil Möllerström, Traryd och Åke Widgren, Karlskrona den 5 juli och av Bertil Möllerström och Mats Gustafsson den 18 augusti 2004. Vid första tillfället var vattenståndet normalt men vid den senare tidpunkten extremt högt och sikten dålig, vilket försvårade en skattning av individantalet. Hängasjön är en oligotrof sjö. Flytsvaltingen förekommer i sydvästra delen av sjön i ett antal, mer eller mindre åtskilda, subpopulationer. Stränderna i denna del av sjön kantas bland annat av pors (*Myrica gale*) och gråvide (*Salix cinerea*) och i vattnet intill stranden bredkaveldun (*Typha latifolia*) och vass (*Phragmites communis*). Bland vattenväxterna i denna del av sjön kan nämnas sjösäv (*Schoenoplectus lacustris*), nordnäckros (*Nymphaea candida*), gul näckros (*Nuphar luteum*), hårslinga (*Myriophyllum alternifolium*), gäddnate (*Potamogeton natans*), ålnate (*Potamogeton perfoliatus*), flota-gräs (*Sparganium friesii*) och bläddra (*Utricularia* sp.).

Under sommaren 2004 inventerade Kjell Georgsson, Halmstad ett antal sjöar och vattendrag i Halland, där flytsvaltingen kunde förekomma. Det visade sig att den halländska förekomsten inskränkte sig till sjöarna Svarten och Kalvsjön. Kjell Georgssons inventering av Svarten visar att flytsvalting växer i spridda förekomster (subpopulationer) i praktiskt taget hela sjön. Den 16 augusti 2004 gjorde Kjell Georgsson och Mats Gustafsson en detaljstudie av bestånden i Svartens södra del, Svartens utlopp i Svartån och Kalvsjön. Sjön Svarten är oligotrof. Rosetter av flytsvalting växer på botten i hela sjön ned till två meters djup och har ökat i numerär de senaste 6-7 åren. Enligt utsago från boende vid sjön fanns flytsvaltingen i sjön redan för 35 år sedan. Bland följeväxterna märks främst notblomster (*Lobelia dortmanna*), gul näckros (*Nuphar luteum*) och gäddnate (*Potamogeton natans*) med inslag av vass (*Phragmites australis*), röd näckros (*Nymphaea alba* f. *rosea*), slinga (*Myriophyllum* sp.) och knöltåg (*Juncus bulbosus*).

Kalvsjön är också oligotrof och rik på vattenväxter, som vass (*Phragmites australis*), sjöfräken (*Equisetum fluviatile*), sjösäv (*Schoenoplectus lacustris*), gul näckros (*Nuphar luteum*), vit näckros (*Nymphaea alba*), gäddnate (*Potamogeton natans*), flytsäv (*Scirpus fluitans*) och hårslinga (*Myriophyllum alterniflorum*). Flytsvaltingen växer på botten ned till 2 meters djup runt hela sjön.

Cirka 900 meter ostsydost om Rammsjöstrand i Skåne ligger kustnära gölar omgivna av betesmark med artrik flora och aldungar. Förekomsten av flytsvalting i de olika gölarna inventerades den 29 augusti 2004 av Mats Gustafsson. Vattendjupet i gölarna varierade, en göl var helt torrlagd medan vattendjupet i de övriga gölarna var ett par decimeter till knappt en meter. De flesta gölarna är bevuxna med en ganska tät vegetation av främst blås Starr (*Carex vesicaria*) och knappsäv (*Eleocharis palustris*), svalting (*Alisma plantago-aquatica*) och vattenpilört (*Polygonum amphibium*). En rad andra arter förekommer också i gölarna bland annat krypfloka (*Apium inundatum*).

Det svenska beståndet av flytsvalting

En uppsummering av det skattade beståndet av flytsvalting låter sig göras efter de inventeringar som företagits under växtsäsongen 2004. Det kända svenska beståndet av flytsvalting kan sammanfattas på följande sätt.

Län	Lokal	Skattad pop. storlek	Antal subpopulationer
Kronoberg	Hängasjön	350 individ	3
Halland	Svarten med utlopp	> 4000 individ	17
	Kalvsjön	1000 individ	1
Skåne	Rammsjöstrand	2500 individ	5
Summa		7850 individ	cirka 26

Skattad förekomst av flytsvalting (Luronium natans) i Sverige. På varje lokal förekommer flytsvalting i ett antal bestånd, subpopulationer, som är geografiskt mer eller mindre isolerade från varandra.

Det är viktigt att påpeka att till den redovisade förekomsten tillkommer ett okänt antal individ som finns i de mellersta och norra delarna av Svarten. En kvalificerad gissning är att det svenska beståndet uppgår till 10 000 individ.

Syftet med undersökningen

Flytsvaltingen förekommer inom tre olika områden i Sydsverige, där varje område kan betraktas som en metapopulation. Varje sådan metapopulation är uppdelad i ett antal bestånd, subpopulationer, som mer eller mindre är geografiskt skilda åt. För närvarande är genflödet mellan dessa metapopulationer obefintligt eller i varje fall mycket litet. Dessa tre metapopulationer har förmodligen introducerats vid tre olika tillfällen.

Undersökningens syfte är att studera den genetiska variationen inom och mellan populationer, för att försöka klargöra om populationerna i Skåne, Halland och Små-

land genetiskt sätt har gemensamt ursprung eller inte. Detta vore inte minst relevant information om någon population inom det svenska utbredningsområdet någon gång i framtiden måste förstärkas. Samtidigt kan man också få en viss fingervisning om reproduktionsätt och kanske genutbyte, det vill säga om subpopulationerna i exempelvis Svarten huvudsakligen förökat sig vegetativt genom utlöpare eller om sexuell förökning spelar eller har spelat någon roll vid etableringen av nya bestånd respektive bidragit till den genetiska diversiteten. Med hjälp av molekylära metoder har vi undersökt genetiska likheter och skillnader inom mellan populationer av flytsvalting.

Molekylära genetiska markörer

Genetisk variation inom en art, mellan och inom populationer av en art samt mellan individer kan mätas med hjälp av genetiska markörer. Tidigare har man använt sig av morfologiska, fysiologiska och biokemiska markörer för dessa analyser. Dessa har emellertid uppenbara brister – de finns endast i ett litet, begränsat antal och de är ofta starkt beroende av miljöfaktorer och utvecklingsstadium. Med molekylärgenetikens framväxt går det idag att använda molekylära markörer som finns i nästan obegränsade mängder och som är oberoende av omvärldsfaktorer och utvecklingsstadium.

För att studera variationen inom de svenska bestånden av flytsvalting har vi valt att använda oss av så kallade RAPD-markörer. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) bygger på att man låter 10-nukleotider långa syntetiska DNA-sekvenser (primers) binda in till homologa sekvenser i växtens DNA. Om två primers binder in till var sin sträng i DNAt och de inte ligger alltför långt ifrån varandra så kan den mellanliggande DNA-sekvensen uppförökas miljontals gånger med så kallad PCR-teknik. Dessa sekvenser kan sedan detekteras som band på en agarosgel efter elektroforetisk separation. Varje enskilt band, som uppkommit på detta sätt, kan behandlas som en dominant genetisk markör.

Material och metoder

Växtmaterial

Insamling av material för en genetisk undersökning av detta slag har gjorts under år 2004. I första hand har bladrosetter, som flutit omkring på vattenytan, insamlats med följande resultat.

Hängasjön i Småland

Insamling och beståndsinventering genomfördes den 18 augusti av Bertil Möllerström, Traryd och Mats Gustafsson. Vid insamlingstillfället var vattenståndet högt, det vill säga en meter över normalt och siktdjupet dåligt, endast en halvmeter. Det höga vattenståndet och den dåliga sikten innebar att nästan enbart flytande rosetter kunde samlas.

Lokal	Insamling	Material/beteckning
"Luroniumviken", söder om båtplatsen, 30 m väster om utloppet till Pampasjön	Flytande rosetter	Sm-Hä-8
"Luroniumvikens" östra sida, nordost om båtplatsen	Flytande rosetter	Sm-Hä-9
Söder om V i Vadudden	Flytande rosetter, flytblad med bottenfasta rosetter	Sm-Hä-10
Västra sidan av sjön, nordost om "Luroniumviken", norr om stora bryggan	Flytande rosetter	Sm-Hä-11
Västra sidan av sjön, nordost om "Luroniumviken", söder om stora bryggan	Flytande rosetter	Sm-Hä-12

Insamlat material från olika subpopulationer i Hängasjön (Hä). Siffrorna betecknar subpopulationer.

Beståndet har troligen påverkats minimalt av insamlingen dels därför att den är stor och dels därför att företrädesvis flytande material, som kanske ändå endast till ringa del skulle rotat sig, har insamlats.

Halland

Insamlingen gjordes den 16 augusti av Kjell Georgsson, Halmstad och Mats Gustafsson. I Svarten insamlades material av fem subpopulationer av flytsvalting i form av på ytan flytande bladrossetter och i något enstaka fall blommande/fruktifierande individ med flytblad (se tabell). Från varje subpopulation insamlades flera flytande individ, med syfte att undersöka den genetiska variationen mellan individ från samma bestånd.

I Svartån, som utgör Svartens utlopp, insamlades två individ tillhörande samma subpopulation.

Flytsvalting växer runt hela Kalvsjön, varför materialet från denna lokal betraktas som tillhörande en och samma population.

Bestånden har troligen påverkats minimalt av insamlingen dels därför att bestånden är stora och dels därför att företrädesvis flytande material, som kanske ändå endast till liten del skulle rota sig, har insamlats.

Lokal	Insamling	Material/beteckning
Kalvsjön, bladrossetter fanns i hela sjön ned till minst 2 meter djup	Tio individ av bottenväxande rosetter.	Ha-Ka-1
Svartån, utloppet av Svarten, strömmande vatten. Bladrossetter och blommande individ.	Två individ av bottenväxande rosetter.	Ha-Så-1

Insamlat material av flytsvalting i Kalvsjön och Svartån. Siffrorna betecknar subpopulationer.

Lokal	Insamling	Material/beteckning
Svarten, södra sidan av sjön, båtbygga vid Borsthult.	Flytande individ samlade på fyra ställen av subpopulationen.	Ha-Sv-1
Svarten, Södra sidan av sjön, 100 m öster om föregående lokal.	Ett flytande individ.	Ha-Sv- 2
Svarten, sydöstra sidan, på eller nära stranden. Rosetter och blommande individ växte på land och i sjön.	Fyra flytande (F) individ och ett individ växande på land (L).	Ha-Sv-3:1-4 (F) Ha-Sv-3:5 (L)
Svarten, viken "Kalven", norra sidan. Bladrosetter och blommande individ.	Två flytande individ.	Ha-Sv-4
Svarten, viken "Kalven", vid bryggan. Bladrosetter, blommande och fruktifierande individ.	Två flytande individ.	Ha-Sv-5

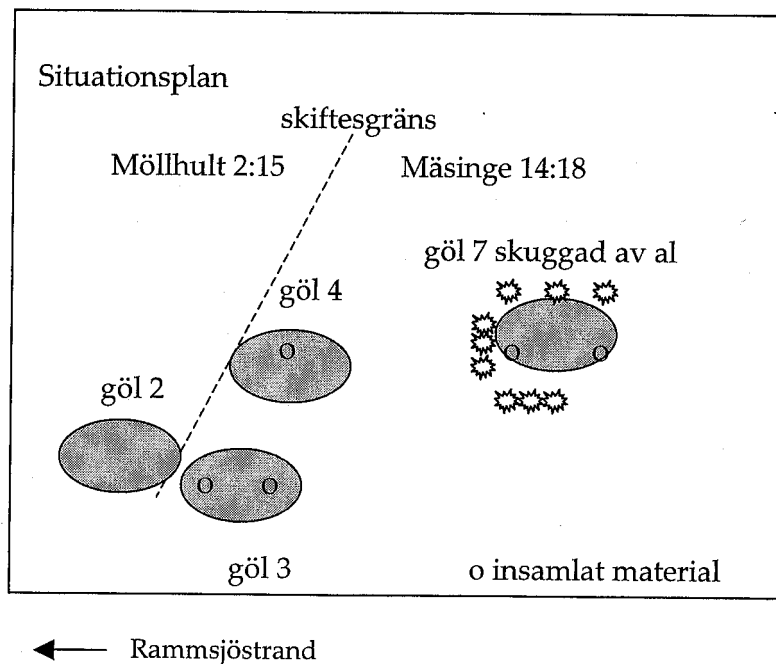
Insamlat material av flytsvalting i Svarten. Siffrorna betecknar subpopulationer.

Rammsjöstrand

Insamlingen gjordes den 29 augusti av Mats Gustafsson. Vid insamlingstillfället var vattenståndet normalt och siktdjupet endast någon decimeter. Flytsvalting insamlades från tre gölar, 3, 4 och 7 (se figur). De tre gölarna var samtliga kraftigt igenväxta av främst blås Starr (*Carex vesicaria*). I göl 3 och 4 var vattenståndet ungefär en halv meter, medan göl 7 var torrlagd. I göl 4 insamlades också material av svalting (*Alisma plantago-aquatica*) för kontroll av det genetiska avståndet.

Rammsjöstrand, göl nr	Insamling	Material/beteckning
3, intill den sydöstra stenen.	Flytblad och i blom och frukt	Sk-Ra-1a
3, intill skiftesgränsen.	Något enstaka individ med flytblad	Sk-Ra-1b
4, nära skiftesgränsen.	Vegetativt individ	Sk-Ra-2
7, södra delen.	Vegetativa individ	Sk-Ra-3

Insamling av material för genetiska undersökningar från Rammsjöstrand. Siffrorna betecknar subpopulationer.



Figur 1. Situationsplan över gölarna med flytsvalting i Rammsjöstrand.

För att minimera påverkan på beståndet har i första hand flytande material samlats in och insamlingen gjordes från de tre gölar, som hade rikligast bestånd.

Metoder

DNA-extraktion

Från varje individ togs ett blad som homogeniserades i flytande kväve till ett fint pulver. Ca 300 mg blandades med 750 μ l 0.5 M NaCl, 0.05 M EDTA, 0.1 M Tris pH 7.5 och 100 μ l 10% (w/v) natriumdodecylsulfat, inkuberades vid 65°C i 20 min varefter 250 μ l 5 M KAc tillsattes. Blandningen fick stå på is i 30 min och centrifugerades därefter vid 14 000 rpm i 15 min. Överlösningen sattes till ett nytt eppendorfrör och 1 vol kall isopropanol tillsattes. Fällningen centrifugerades ner enl. ovan och löstes i 250 μ l TE och 250 μ l 2 M NaCl, 0.05 M EDTA, 2% (w/v) cetyltrimoniumbromid (CTAB), 0.2 M Tris pH 7.5 tillsattes. Blandningen inkuberades vid 65°C i 15 min, extraherades med 1 vol kloroform:isoamylalkohol (24:1) och centrifugerades. Extraktionen upprepades en gång med överlösningen. Nukleinsyrorna fällades ut med 1 vol isopropanol och efter centrifugering fick fällningen torra varefter den löstes i 50 μ l TE. RNA avlägsnades genom att behandla provet med 2.5 μ l RNAase A (1 mg/ml) vid 37°C i 30 min. DNA-koncentrationen bestämdes spektrofotometriskt vid 260 nm och kvaliteten analyserades med elektrofores på 1% agarosgeler.

PCR-analys

Totalt testades 35 oligonukleotidprimrar (Operon Technologies, Alameda, CA, USA) på ett begränsat antal individer från olika populationer för att hitta de primrar som detekterar mest polymorfi. Denna screening ledde fram till 12 primrar som användes för den slutliga analysen (se tabell). PCR-reaktionerna utfördes i en volym av 20 µl som bestod av 1xreaktionsbuffert (75 mM Tris pH 8,8, 20 mM ammoniumsulfat, 0,1% (v/v) Tween), 0,6 ng primer, 0,1 mM av resp. dATP, dGTP, dCTP och dTTP, 2 mM MgCl₂, 0,5 U Taq polymeras och 20 ng DNA.

Amplifieringen gjordes i en GeneAMP PCR System 9700 thermocycler (Biosystems, California, U.S.A) med en första cykel där DNAt gjordes enkelsträngat vid 94°C i 3 min följt av 45 cykler enl.: 1 min vid 94°C, 1 min vid 37°C och 2 min vid 72°C med snabbast möjliga temperaturväxlingar. Den sista cykeln följdes av en inkubering vid 72°C i 10 min. PCR-produkterna separerades på 1,4% agarosgeler som fotograferades i UV-ljus efter infärgning med etidiumbromid.

Primer	Nukleotidsekvens
A-07	5'-GAAACGGGTG-3'
A-11	5'-CAATCGCCGT-3'
D-20	5'-ACCCGGTCAC-3'
F-19	5'-CCTCTAGACC-3'
G-01	5'-CTACGGAGGA-3'
G-10	5'-AGGGCCGTCT-3'
G-11	5'-TGCCCGTTCGT-3'
G-17	5'-ACGACCGACA-3'
G-19	5'-GTCAGGGCAA-3'
I-07	5'-CAGCGACAAG-3'
M-04	5'-GGCGGTTGTC-3'
Y-12	5'-AAGCCTGCGA-3'

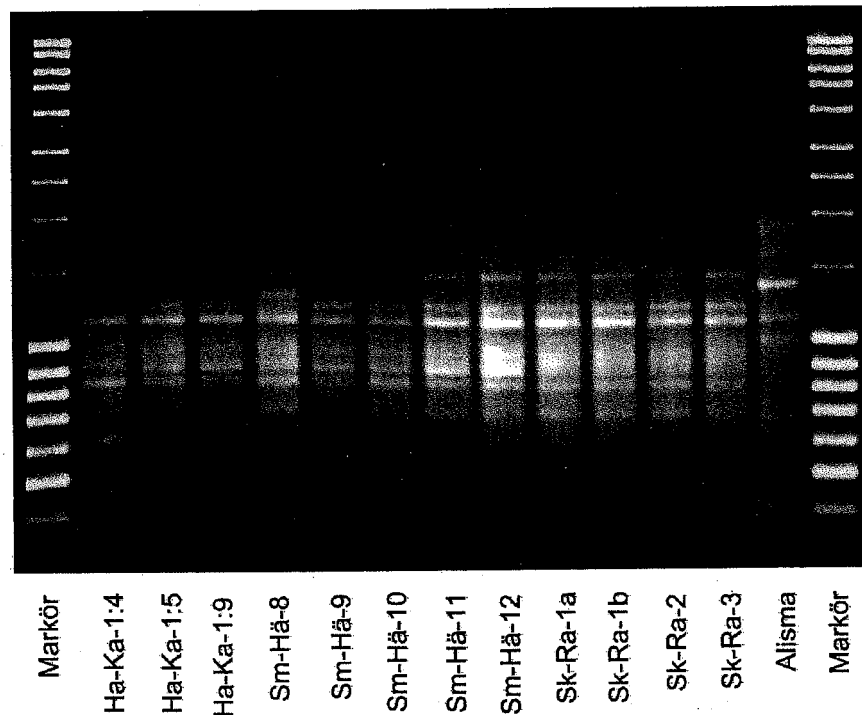
RAPD-primers som använts vid analys av flytsvalting, Lurionium natans. Alla primers kommer från Operon Technologies, Alameda, CA, USA

Dataregistrering och analys

Varje band som genereras av en RAPD-primer betraktas som ett oberoende locus och registreras som antingen närvarande (1) eller frånvarande (0). Måttet på genetisk likhet (GS, genetic similarity) beräknades med Jaccards similarity coefficient (Jaccard 1908) mellan alla möjliga individer och populationer. Jaccards coefficient tillskriver inte frånvaron av band någon genetisk betydelse. Jaccards index = $NAB / (NAB + NA + NB)$, där NAB är antalet band som delas av prov A och prov B, NA är antalet band som finns i prov A men ej i prov B, och NB är antalet band som finns i prov B men ej i prov A. Likhetsmatriserna användes till att skapa dendrogram, som visar det genetiska släktskapet mellan individer och populationer, med hjälp av SHAN clustering procedure i NTSYS-pc mjukvara, version 2.1 (Rohlf 2000).

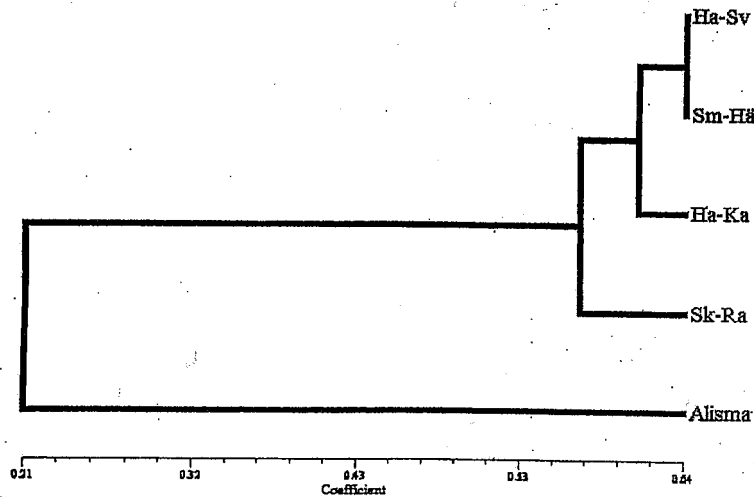
Resultat

Totalt har DNA analyserats från 28 individer som representerar 13 subpopulationer från 5 sjöar och vattendrag i Halland, Småland och Skåne. Exempel på en RAPD-analys visas i figur 2 och resultaten av den genetiska analysen i figur 3 – 5.



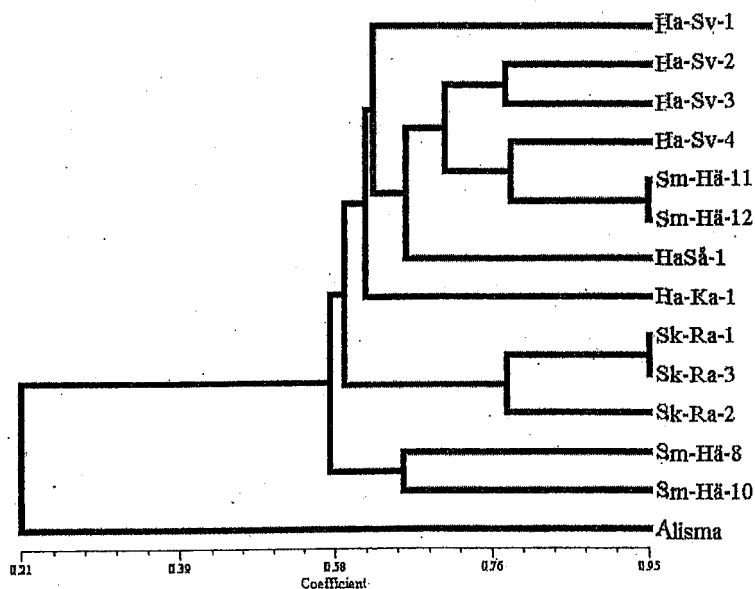
Figur 2. Exempel på RAPD-analys av flytsvalting. DNA från respektive individ har PCR-amplifierats med primer G17 och de så framtagna DNA-sekvenserna har separerats elektroforetiskt på en agarosgel.

Figur 3 åskådliggör skillnader/likheter mellan fyra populationer av flytsvalting och en population av svalting (*Alisma plantago-aquatica*), den senare från Rammsjöstrand. Likhetskoefficienten kan variera mellan 1,0 och 0,0, där 1,0 innebär fullständig likhet eller 100 % homologi och 0,0 då materialet är genetiskt sätt helt olika, alltså ju större skillnader ju lägre koefficient. Av analysen framgår att flytsvalting från Svarten (Ha-Sv) är genetiskt sätt närmast besläktad med flytsvalting från Hängasjön (Sm-Hä). 64 % av de delar av genomet som vi analyserat är identiskt eller om man så vill 36 % är olika. Förvånansvärt nog är flytsvalting från Svarten mindre besläktad med flytsvalting från Kalvsjön (cirka 60% likhet). Störst skillnad uppvisar materialet från Svarten med flytsvalting från Rammsjöstrand i Skåne (56 % homologi). Svalting och flytsvalting har en mycket liten del av genomet gemensamt (21%).



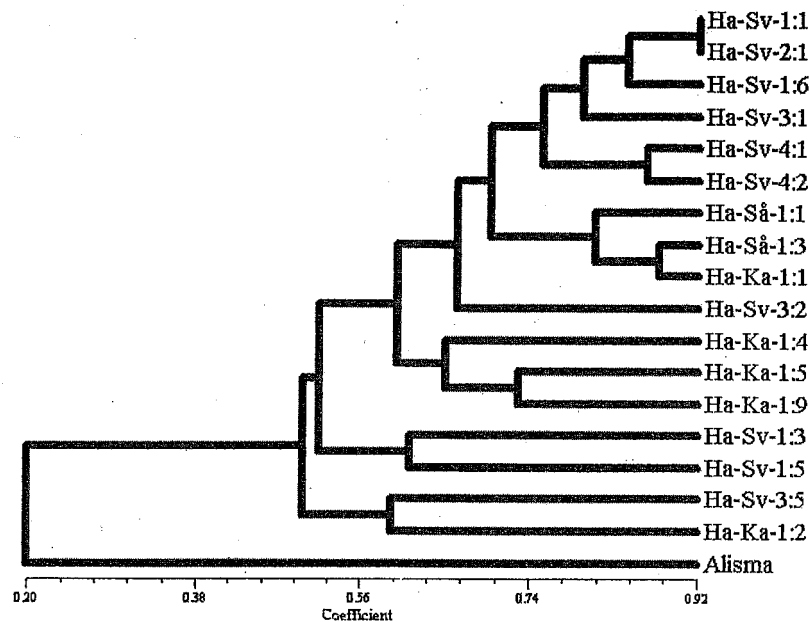
Figur 3. Dendrogram som beskriver det genetiska släktskapet mellan populationer av flytsvalting, *Luronium natans*, från Hängasjön i Småland (Sm-Hä), Svarten (Ha-Sv) och Kalvsjön (Ha-Ka) i Halland samt Rammsjöstrand i Skåne (Sk-Ra) baserat på Jacard's likhetskoefficient. Som kontroll har medtagits en population av svalting (*Alisma*) från Rammsjöstrand. Likhetskoefficienten kan variera mellan 1,0 (100 % likhet) och 0,0 (genetiskt helt olika).

I figur 4 visas skillnader/likheter mellan olika subpopulationer från Rammsjöstrand (Sk-Ra), Svarten (Ha-Sv) och Hängasjön (Sm-Hä). Dessutom tillkommer en subpopulation från vardera Svartån (Ha-Så) och Kalvsjön (Ha-Ka).



Figur 4. Dendrogram som beskriver det genetiska släktskapet mellan subpopulationer av flytsvalting, *Luronium natans*, baserat på Jacard's likhetskoefficient. Dessa subpopulationer är Ha-Sv-1, Ha-Sv-2, Ha-Sv-3 och Ha-Sv-4 från Svarten; Ha-Så-1 och Ha-Ka-1 från Svartån respektive Kalvsjön i Halland. Hängasjön i Småland representeras av subpopulationerna Sm-Hä-8, Sm-Hä-10, Sm-Hä-11 och Sm-Hä-12. De skånska subpopulationerna är Sk-Ra-1, Sk-Ra-2 och Sk-Ra-3. Som kontroll har medtagits en population av svalting (*Alisma*) från Rammsjöstrand. Likhetskoefficienten kan variera mellan 1,0 (100 % likhet) och 0,0 (genetiskt helt olika).

Av figur 4 framgår att subpopulationerna från Svarten skiljer sig markant åt. Subpopulationerna Ha-Sv-2 och 3 är mest lika (75 %), medan Ha-Sv-4 är mest homolog med två subpopulationer från Hängasjön (Sm-Hä-11 och Sm-Hä-12, 75 % likhet). Subpopulation Ha-Sv-1 skiljer sig markant från övriga subpopulationer från Svarten (cirka 62 % homolog). En mycket stor homolog (95 %) uppvisar subpopulationerna Sm-Hä-11 och Sm-Hä-12 från Hängasjön, medan gruppen Sm-Hä-8 och 10 uppvisar en större skillnad mellan subpopulationerna (66 % homolog). De två grupperna (Sm-Hä-11/12 respektive Sm-Hä-8/10) har den största skillnaden i hela materialet av flytsvalting, nämligen 58 % homolog. Subpopulationerna Sk-Ra-1 och Sk-Ra-3 från Rammsjöstrand i Skåne är mycket lika (95 %), medan Sk-Ra-2 avviker med 78 % homolog från de två andra. Genomet av svalting (*Alisma*) skiljer sig avsevärt från flytsvalting (enbart 21 % homolog).



Figur 5. Dendrogram som beskriver det genetiska släktskapet inom och mellan subpopulationer av flytsvalting, *Luronium natans*, baserat på Jacard's likhetskoefficient. Likhetskoefficienten kan variera mellan 1,0 (100 % likhet) och 0,0 (genetiskt helt olika). I figuren visas enbart material från Halland (Ha) och är kodat på följande sätt. Ha-Sv-1:1 betyder att materialet kommer från Svarten (Sv), representerar subpopulation 1 och individ 1 (1:1). Således betecknar Ha-Sv-2:1 individ 1 i subpopulation 2 från Svarten. Övriga förkortningar är Ha-Så för flytsvalting från Svartån och Ha-Ka flytsvalting från Kalvsjön. Som kontroll har medtagits en population av svalting (*Alisma*) från Rammsjöstrand.

I figur 5 åskådliggörs framför allt genetiska skillnader/likheter mellan olika individ tillhörande samma subpopulation. I detta fall visas variationen mellan och inom subpopulationer från Halland.

Den genetiska variationen mellan individ inom samma subpopulation är avsevärd. Individ 1 tillhörande subpopulation Sv-1 (från Svarten) uppvisar 85 % homolog med individ 6, men enbart 50 % med individ 3 och 5, vilka sinsemellan är 60 % homologa. I subpopulation 3 från Svarten (Ha-Sv-3) är släktskapet 65 % mellan individ 1 och

individ 2 och cirka 50 % mellan individ 1 och 5. I subpopulationen från Kalvsjön (Ha-Ka-1) är inga individ genetiskt identiska, mest lika är individ 5 och 9 med cirka 70 % homologi. Individ 5 (Ha-Ka-1-5) uppvisar cirka 65 % likhet med individ 4, 60 % med individ 1 och bara 50 % likhet med individ 2. Genomet av svalting (*Alisma*) skiljer sig avsevärt från flytsvalting (enbart 20 % homologi).

Sammanfattning av resultaten och diskussion

Undersökningen av genetiska variationen inom flytsvalting (*Luronium natans*) kan sammanfattas på följande sätt:

1. Populationen av flytsvalting från Svarten är genetiskt sett närmast besläktad med flytsvalting från Hängasjön, mindre med populationen från den närliggande Kalvsjön och allra minst med populationen från Rammsjöstrand.
2. De förekommer stora skillnader mellan många subpopulationer från Svarten och Hängasjön, medan subpopulationerna från Rammsjöstrand uppvisar större homologi.
3. I det halländska materialet är den genetiska variationen mellan individ tillhörande samma subpopulation avsevärd.
4. Generellt sett är användandet av molekylära markörer, som RAPD, en säker metod för att undersöka genetisk variation, förutsatt att 1) antalet markörer är stort, 2) att reproducerbarheten är tillfredsställande, 3) att analysen baseras på ett tillräckligt stort antal individ. Denna undersökning uppfyller dessa krav.

Den genetiska variationen hos flytsvalting har tidigare undersökts med isoenzymer (Kay & John, 1999). Denna undersökning visade på en hög genetisk variation mellan naturligt förekommande populationer i Wales vilket väl överensstämmer med de data som vi erhållit med RAPD-markörer på populationer från södra Sverige. Denna höga variation kontrasterar starkt mot de undersökningar som gjorts på andra arter inom samma familj, som visar på extremt låg isoenzymopolymorfism (*Alisma* arter., Triest 1991, Triest & Roelandt 1991 och flocksvalting, *Baldellia ranunculoides*, Triest & Vuille 1991). Detta understryker vikten av att studera variationen inom de enskilda arterna och inte generalisera utifrån resultat erhållna från närbesläktade arter.

Det är i dagsläget osäkert i vilken utsträckning flytsvalting är självbefruktare eller korsbefruktare. Tidigare undersökningar pekar på att perenna växter och korsbefruktare har den största delen av sin genetiska variation inom population medan årliga och självbefruktare har störst genetisk variation mellan populationerna (Weissing *et al.* 2005). Våra RAPD-data visar på stor variation inom populationerna, vilket således skulle tyda på att flytsvalting huvudsakligen är korsbefruktare.

Synpunkter på bevarandestrategi

Valet av strategi för bevarande av hotade växter är till stor del beroende av artens reproduktionssystem, om arten ifråga är själv- eller korsbefruktare, är apomikt eller har vegetativ förökning kan ha stor betydelse för åtgärdsprogrammets planläggning och genomförande. Flytsvaltingen har ett reproduktionssystem som säkerställer genetisk variation, det vill säga sexuell förökning, men samtidigt förekommer också vegetativ förökning (klonbildning), vilken kan vara betydelsefull i etableringsfasen. Undersökningen visar att flytsvalting från de tre regionerna (Skåne, Halland och Småland) är genetiskt sätt ganska olika, särskilt flytsvalting från Skåne avviker från Hallands och Smålands populationerna. Dessutom är den genetiska variationen förhållandevis stor mellan och inom subpopulationer. För att i framtiden säkerställa att hela eller väsentliga delar av genpoolen bevaras krävs därför:

1. att livskraftiga populationer vidmakthålls inom hela utbredningsområdet.
2. att antalet subpopulationer inte reduceras, speciellt inte i Svarten och Ramm-sjöstrand.
3. att antalet blommande individ i respektive subpopulation är tillräckligt stort för att säkerställa sexuell förökning och därmed genetisk variation.
4. att beståndsstorleken följs upp regelbundet, så att populationerna även under "flaskhalsår" blir tillräckligt stora för att säkerställa sexuell förökning och omkombination av gener.

Referenser

- Clapham, A.R., Tutin, T.G. & Warburg, E.F. 1965. Flora of the British Isles. Illustrations. Part IV. Monocotyledones. Cambridge.
- Gustafsson, M. 1995. Förekomst av flytsvalting och strandbeta på Bjärehalvön. Lunds Botaniska Förening, medlemsblad 1995:2.
- Kay, Q.O.N., John, R.F. and Jones, R.A. 1999. Biology, genetic variation and conservation of *Luronium natans* (L.) Raf. in Britain and Ireland. *Watsonia* 22,4: 301-315.
- Triest, L. ed. (1991). Isozymes in water plants. *Opera Botanica Belgica* 4: 1-259.
- Triest, L. & Roelandt, B. (1991). Isozymes in diploid and polyploid *Alisma* species (Alismataceae). *Opera Botanica Belgica* 4: 27-36.
- Triest, L. & Vuille, F.-L. (1991). Isozyme variation in several seed collections and hybrids of *Baldellia* (Alismataceae). *Opera Botanica Belgica* 4: 37-48.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. & Kahl, G. (2005). DNA fingerprinting in plants, pp. 246-264. CRC Press, Boca Raton, Fl., USA.