

Populationsgenetisk undersökning av svensk ögontröst på Gotland



Länsstyrelsen
Gotlands län

Titel: Populationsgenetisk undersökning av svensk ögontröst på Gotland
Författare: Nicolas Dussex och Niclas Gyllenstrand
ISSN: 1653-7041
Rapportnummer: 2025:2
Diarienummer: 511-4936-2023
Utgivningsår: 2024
Omslagsbild: Annika Forsslund

Förord

Centrum för genetisk identifiering vid Naturhistoriska riksmuseet är en uppdragsfinansierad verksamhet som erbjuder myndigheter och organisationer hjälp med genetiska analyser av biologiskt material. Målet med uppdraget är att utföra en populationsgenetisk undersökning för att klargöra den genetiska strukturen hos populationer av svensk ögontröst (*Euphrasia stricta* var. *suecica*) för att jämföra genetisk diversitet mellan populationer och fastställa de bästa källpopulationerna för att komplettera mindre populationer.

Stockholm, december 2024

Nicolas Dussex
Analytiker

Niclas Gyllenstrand
Intendent

Innehåll

POPULATIONSGENETISK UNDERSÖKNING AV SVENSK ÖGONTRÖST PÅ GOTLAND	1
FÖRORD	3
BAKGRUND	5
Material och metoder	5
Resultat.....	6
Referenser	12

Bakgrund

Svensk ögontröst *Euphrasia stricta* var. *suecica* är listad som starkt hotad enligt 2020 års rödlistning och är bara känd från ett fåtal lokaler på Gotland. Det finns ett upprättat åtgärdsprogram för svensk ögontröst (Johansson, 2007). Tidigare genetiska undersökningar (Kolseth och Lönn 2005) har visat att var. *suecica* är genetiskt distinkt. Det finns även stor genetisk variation mellan de gotländska populationerna (Kolseth et. al. 2005).

Målet med uppdraget är att utföra en populationsgenetisk undersökning för att klargöra den genetiska strukturen hos 9 populationer av svensk ögontröst (*Euphrasia stricta* var. *suecica*) för att jämföra genetisk diversitet mellan populationer och fastställa de bästa källpopulationerna för att komplettera de mindre populationerna, framför allt i Liste Strandbete (LI) och Gerum Prästänge.

Material och metoder

Följande populationer och antal prover per population analyserades: Gerum Prästänge Norra (GN), 6 individer, Gerum Prästänge Södra (GS), 6 individer, Lojsta Prästänge Norra (LON) 6 individer, Lojsta Prästänge Södra (LOS) 6 individer, Anga Prästänge (A) 6 individer, Liste strandbete (LI) 5 individer, Bendes strandäng Norra (BN) 5 individer, Bendes strandäng Södra (BS) 6 individer, Utgrupp (U): Lila ögontröst 4 individer. Proverna bestod av minst 5 stjälkblad insamlade i eppendorfrör med silica som torkmedel.

DNA extraherades med CTAB protokoll (Doyle och Doyle 1987). DNA-koncentration mättes med ett Qubit-instrument. Sekvenseringsbibliotek och sekvensering (NGS, next-generation-sequencing) gjordes av BMKgene.

Eftersom svensk ögontröst är en känd tetraploid (fyra genuppsättningar), använde vi en anpassad metod för att identifiera genetisk variation. Dels utslöts heterozygota varianter som var fixerade i alla populationer med antagandet att dessa utgjordes av en allel (ex. A) fixerad i det ena föräldrangenomet och en alternativ allel (ex. T) fixerad i det andra föräldrangenomet. Dels användes endast positioner med två allelvarianter (ex. A och T) och utslöt positioner med mer än två varianter (ex. A, T och C), vilket innebar att vi behöll korrekt variation.

Efter identifiering av bi-alleliska positioner i alla prover användes Plink v1.9 (Chang et al. 2015) för att konvertera data till genotyper (ex. 0/0, 0/1, 1/1) för genetisk analys. Baserat på genotypdata undersöktes genetisk struktur med Principal Component Analysis (PCA) som

beskriver fördelningen av variation i datasetet och bestämma vilka populationer eller individer som är mer genetiskt lika eller olika.

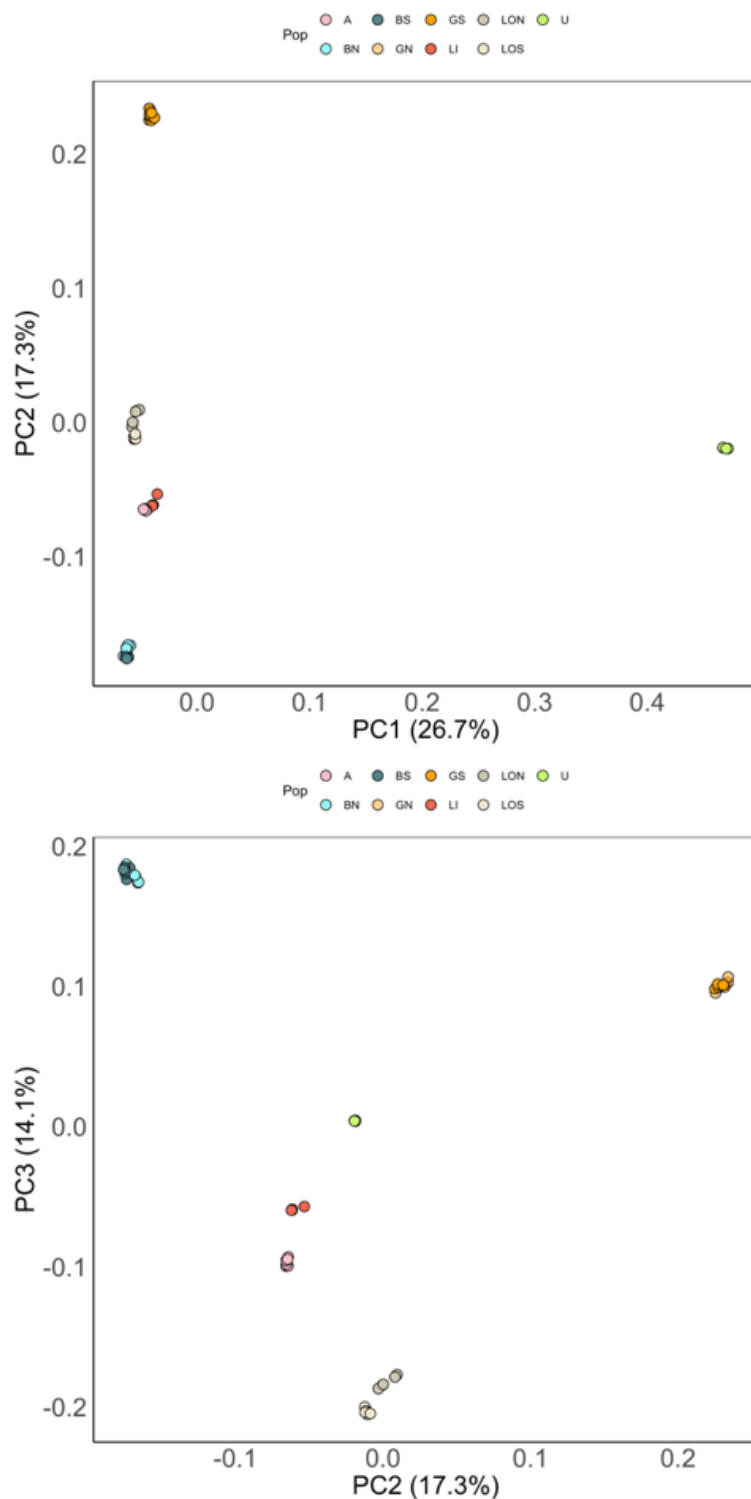
Efter detta gjordes en admixture analys med ADMIXTURE (Alexander et al. 2009) för att bestämma antalet genetiska kluster (grupper) som kan förklara den observerade genetiska variationen. För detta gjordes körningar för olika K värden från 2 till 5 (K är genetiska kluster). För varje K värde estimerades tillhörighet till de olika klustren för varje individ.

Slutligen estimerades inavel baserad på observerad heterozygoti och förväntad heterozygoti vid Hardy-Weinberg jämvikt med Plink v1.9 (Chang et al. 2015) med följande ekvation:

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_O}{H_E}$$

Resultat

Vi sekvenserade 50 ögontröst-prover och efter kvalitetsfiltrering och identifiering av bi-allel-lokus erhöll vi totalt 6 895 035 SNP (single nucleotide polymorphism). Vi hittade stöd för 4 genetiska kluster bland svensk ögontröst och där utgruppen (dvs Lila ögontröst, *Euphrasia stricta*; U) visade stark genetisk differentiering (PC1-axel: 26,7%, PC2-axel: 17,3%, PC3-axel: 14,1%; Fig. 1). Liste Strandbetes (LI) populationen grupperar sig med den större populationen i Anga Prästänge (A) medan de två populationerna Gerum Prästänge Norra och Södra (GN och GS) grupperar tillsammans visat i fig. 1 där orangea och gula datapunkter överlappar (Fig. 1). Bendes strandäng N och Bendes strandäng S grupperar sig tillsammans och slutligen Lojsta Prästänge S grupperar med Lojsta Prästänge N.

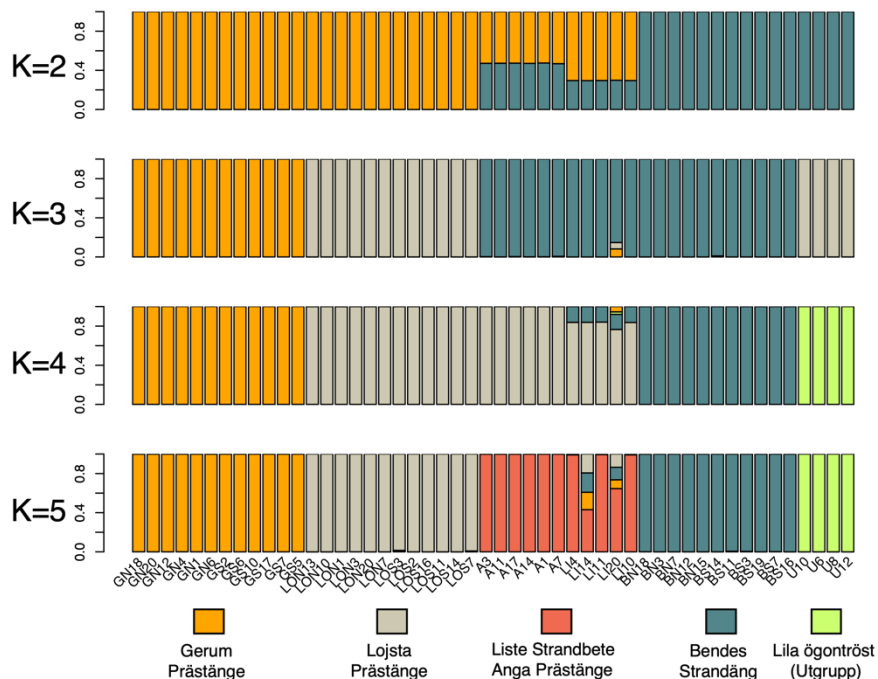


Figur 1. Principal Component Analys (PCA) för 9 ögontröst populationer. A= Anga Prästänge; BN= Bendes Strandäng N; BS= Bendes Strandäng S; GS= Gerum Prästänge S; GN= Gerum Prästänge N; LON= Lojsta Prästänge N; LOS= Lojsta Prästänge S; LI= Liste Strandbete; U= Lila ögontröst, Utgrupp. Inom parenteser på X- och Y-axel anges i procent hur stor del av den totala variationen som

förklaras av komponenten (PC 1-3). Detta ger oss en uppskattning av stödet för den struktur som gestaltas i figuren.

Resultatet från admixture analysen (K=5) (Fig. 2) och PCA-analysen överensstämmer med fyra distinkta populationer av svensk ögontröst och en utgrupp (Lila ögontröst).

Genetiska data kan också användas för att uppskatta inavel med FIS-statistik. FIS sträcker sig från -1 till 1. Ett värde på 0 indikerar ingen inavel, ett värde >0 indikerar överskott av homozygoter (d.v.s. inavel) och ett värde <0 indikerar ett överskott i heterozygositet (d.v.s. utavel).



Figur 2. Admixture plot som visar genetiskt ursprung för varje individ för olika K. Varje vertikal stapel representerar en individ och färgerna representerar proportionen tillhörighet till ett givet genetiskt kluster. Antal genetiska kluster (K) som har testats är 2-5. När man antar 5 genetiska kluster (K=5) är det liten blandning och grupperna överensstämmer med PCA-analysen (Fig. 1, 2). Det är rimligt med fyra genetiskt distinkta grupper och en utgrupp.

Utgruppen (dvs Lila ögontröst; U) visar ett negativt FIS-värde (-0,24), vilket indikerar ett överskott i heterozygositet och tyder på att populationen är stor och drar nytta av relativt högt genflöde från andra populationer. Däremot visar alla andra populationer värden över noll utom möjligen Liste Strandbete som visserligen har Fis-värde på 0.08 men en standardavvikelse på 0.15 vilket innebär att det inte går att skilja från 0. Övriga population har Fis-värden över noll vilket indikerar någon grad av inavel. Arten kan självbefruktas (Johansson 2007) och det är rimligt att anta att höga Fis-värden kan förklaras av självbefruktning.

Man ska också komma ihåg att arten är ett-årig och om det förekommer enstaka år med högre grad av självbefruktning är det ett mindre genetiskt problem. Om de observerade värdena är typiska för dessa populationer går inte att säga med endast data från ett enstaka år. Det bör vara av intresse för förvaltningen av denna art att få kunskap om detta. Ändå är dessa värden fortfarande relativt låga trots att det förekommer självbefruktning (Tabell 1).

Tabell 1. Genomsnittlig inavel för de analyserade ögontröstpopulationerna.

Lokal population / utgrupp	Inavel (F_{IS})	SD
Anga Prästänge	0,12	0,01
Anga Bendes Strandäng N	0,27	0,02
Anga Bendes Strandäng S	0,29	0,02
Gerum Prästänge N	0,29	0,03
Gerum Prästänge S	0,29	0,02
Norrlanda Liste strandbete	0,08	0,15
Lojsta Prästänge N	0,21	0,02
Lojsta Prästänge S	0,18	0,02
Lila Ögontröst, Utgrupp	0,24	0,01

Dessutom visar populationspar som grupperar sig i PCA (Fig. 1) liknande värden på inavel. Till exempel visar populationen av Liste Strandbetes (LI) och Anga Prästänge (A) den lägsta inaveln ($F_{IS}=0.08-0.12$) medan de två Gerum Prästänge (GS och GN) populationerna har ungefär tre gånger högre inavel ($F_{IS}=0.29$).

Syftet med denna studie är att bedöma vilka populationer som är genetiskt bäst lämpade att komplettera Liste Strandbetes (LI) och Gerum (GS och GN). och öka deras genetiska mångfald och minska deras inavel. En oro förknippad med translokationer är risken för att introducera gener som är missanpassade till vissa lokala förhållanden, en process som kallas utavelsdepression. Följaktligen är det i allmänhet att föredra att translokera individer eller frön lokalt, bland närliggande populationer som delar liknande miljöförhållanden. Eftersom Liste Strandbetes (LI) och Anga Prästänge (A) delar en liknande genetisk bakgrund (d.v.s. de grupperar sig tätt i PCA, Fig. 1) och eftersom Anga Prästänge (A) har en av de lägsta inavelsgraden (Tabell 1) är det relativt säkert att använda frön från de senare för att komplettera Liste Strandbetes (LI) populationen och inte riskera utavelsdepression.

För Gerum Prästänge S (GS) skulle den mest genetiskt lika donatorpopulationen vara Gerum Prästänge N (GN). Båda populationerna har dock samma nivå av inavel och Gerum Prästänge N (GN) kan vara för liten för att ge ett lämpligt antal frön för translokation. Baserat på populationsdifferentieringsvärden (Tabell 2) skulle de mest genetiskt nära donatorpopulationerna vara antingen Liste Strandbetes (LI) eller Anga Prästänge (A), eller som andrahandsval Gerum Prästänge (GN eller GS). Även om det finns en möjlig risk för att utavelsdepression, indikerar en metaanalys att fördelarna med translokationer överväger nackdelarna med translokationer (Frankham 2015). Ändå kan ytterligare data om miljöförhållanden som till exempel jordförhållanden och fenotypiska skillnader mellan givar- och mottagarpopulationerna vara viktiga för att helt lösa denna fråga. Den enda fenotypiska skillnad som har kunnat konstateras mellan de olika klustren är Lojsta prästänges population med mer lila färg på blomman jämfört med övriga. Figur 3.

Tabell 2. Parvis populationsdifferentiering baserad på F_{ST} för de fem identifierade klustren (4 genetiska kluster av svensk ögontröst och en utgrupp) från PCA- och admixture-analys. A= Anga Prästänge; BN= Bendes Strandäng N; BS= Bendes Strandäng S; GS= Gerum Prästänge S; GN= Gerum Prästänge N; LON= Lojsta Prästänge N; LOS= Lojsta Prästänge S; LI= Liste Strandbete; U= Lila ögontröst, Utgrupp.

	AngaPrästänge / Listestrandbete	Bendes N / Bendes S	Gerum N / Gerum S	Lojsta N / Lojsta S	Ut-grupp Lila ögontröst
AngaPrästänge / Liste strandbete	0				
Bendes N / Bendes S	0,708	0			
Gerum N / Gerum S	0,478	0,759	0		
Lojsta N / Lojsta S	0,471	0,753	0,548	0	
Ut-grupp Lila ögontröst	0,393	0,686	0,445	0,474	0



Figur 3. Bild av svensk ögontröst från Lojsta Prästänge till vänster, Bendes strandäng i mitten och Anga prästänge till höger.

Referenser

Chang, C. C. et al. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience* 4, s13742–015 (2015).

Alexander, D. H., Novembre, J. & Lange, K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res.* 19, 1655–1664 (2009).

Frankham, Richard. 2015. “Genetic Rescue of Small Inbred Populations: Meta-Analysis Reveals Large and Consistent Benefits of Gene Flow.” *Molecular Ecology* 24 (11): 2610–18.

Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* 19:11-15.

Kolseth, A.-K. & Lönn, M. 2005. Genetic structure of *Euphrasia stricta* on the Baltic island of Gotland, Sweden. *Ecography* 28: 443-452

Kolseth, A.-K., Lönn, M. & Svensson, B.M. 2005. Genetic structure in twomeadow varieties of *Euphrasia stricta* on the Baltic island of Gotland (Sweden) and implications for conservation. *Folia Geobotanica* 40: 163-176.

Johansson P. 2007. Åtgärdsprogram för svensk ögontröst 2008-2012, Rapport 5775.



Länsstyrelsen
Gotlands län

www.lansstyrelsen.se/gotland