

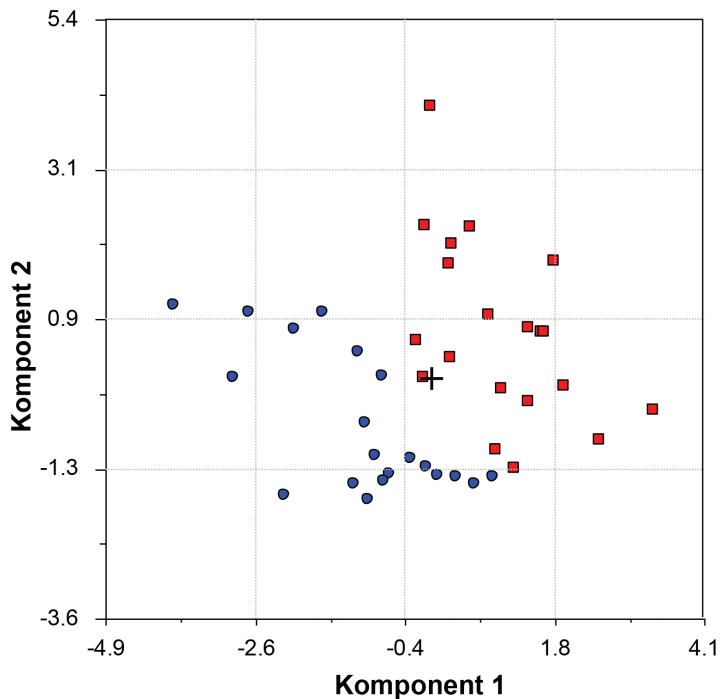
Fig. 2. Målte bladkarakterer (A) og kapselkarakterer (B) brukt i de numeriske analysene av *Papaver radiculatum*.

underarter her i landet. Men nyere molekylære studier har konkludert med at variasjonen skal betraktes som normal for vidt spredte populasjoner og at de ikke har noen taksonomisk verdi (Solstad et al 1999, 2003, Solstad 2009). Dette er i strid med hva tidligere undersøkelser kom fram til (Knaben 1959, Selin & Prentice 1988). Da vi nylig fikk tilgang til frø av to av de tradisjonelle underartene, satte vi i gang en multivariat undersøkelse av morfologiske data for å se om vi kunne belyse problemet videre. Samtidig gjorde vi en liknende undersøkelse av to aksepterte underarter av *Saxifraga paniculata* Miller som en sammenligning. De to underartene av fjellvalmue dyrkes ved Arboretet og Botanisk hage på Milde.

Materiale og metoder

Frø ble samla fra to områder (Fig. 1): A) subsp. *oeksendalense* G.Knaben, Møre & Romsdal, Sunndal, Litldalen, Sandvatnet, 900 m o.h., juli 2007, E. Blomsø leg (materiale i BG); B) subsp. *relictum* (Lundström) Tolmachev, Sogn & Fjordane, Lærdal, Bleia, 600 moh, august 2010, B. Moe & P. H. Salvesen leg (materiale i BG), lokaliteten er beskrevet i detalj av Moe & Salvesen 2011. Planter fra disse frøa ble dyrka i veksthuset til Arboretet og Botanisk hage på Milde under like forhold. Om lag 100 individ ble dyrka av hver underart, og 30 blad og 20 kapsler fra hver underart ble valgt ut tilfeldig til morfometriske studier. Data for undersøkelsen av *Saxifraga paniculata* ble henta fra Oland (2002) og Øvstedal (1998).

Fig. 3. Resultater (score plots) for PCA fra kapseldata. Firkanter: *P. radicatum subsp. oeksendalense*; sirkler: *P. radicatum subsp. relictum*. Den første komponenten forklarer 38,8 % av variasjonen, den andre 32,2 %. Mer forklaring i teksten.



Blad

De følgende karakterene ble målt (Fig. 2A): a: lengde fra bladbasis til bladenden; b: bredden på bladet; c: lengde fra basis av bladet til basis av lobe nr. 2; d: lengde fra basis av lobe nr. 2 til basis av endeloben; e: distanse fra basis av endelobe til ende av endelobe; f: totalt antall lober; α : vinkel mellom lobe nr. 1 og sentralaksen (middel av begge sider); β : vinkel mellom lobe nr. 2 og sentralaksen (middel av begge sider). I beregningene er følgende verdier brukt: a/b, c/d, f, α , β .

Kapsler

De følgende karakterene ble målt (Fig. 2B): a: kapselens lengde; b: kapselens bredde; c: avstand fra basis til punktet hvor kapselen er breiest; d: bredden på øvre ende av kapselen; e: bredden på nedre ende av kapselen; f: vinkelrett avstand fra hårets ende til kapselens overflate; g: antall arrstråler. I beregningene er verdiene a/b, c/a, d/b, e/b, f og g brukt.

Når det gjelder underartene av *Saxifraga paniculata* ble følgende karakterer brukt: a: stengelens lengde; b: blomsterstandens lengde; c: antall blad på stengelen; d: vinkel mellom blomstens sentralakse og kronbladet; e: kronbladets lengde; f: begerbladets lengde; g: antall kjertelhår på begerbladet. I beregningene ble følgende verdier brukt: a/b, c, d, e/f, g.

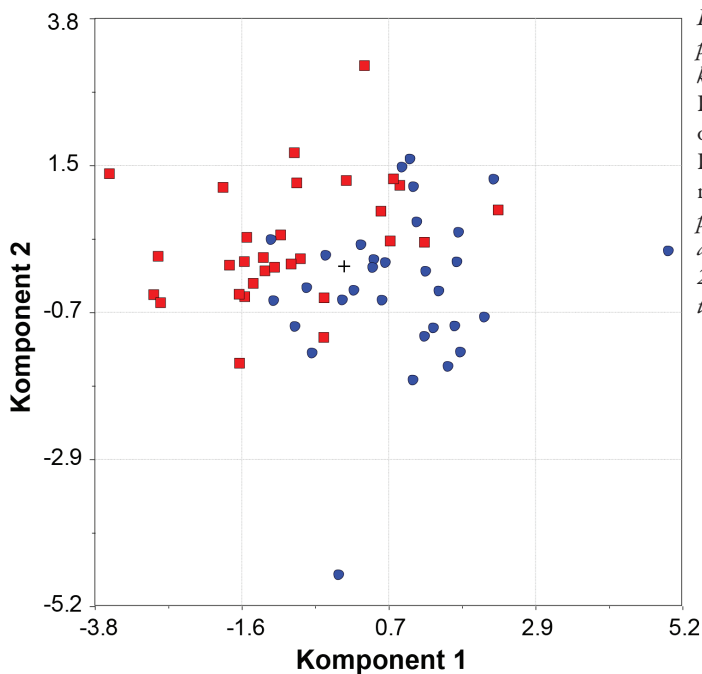


Fig. 4. Resultater (score plots) for PCA fra kapseldata. Firkanter: *P. radicatum subsp. oeksendalense*; sirkler: *P. radicatum subsp. relictum*. Den første komponenten forklare 47,1 % av variasjonen, den andre 24,6 %. Mer forklaring i teksten.

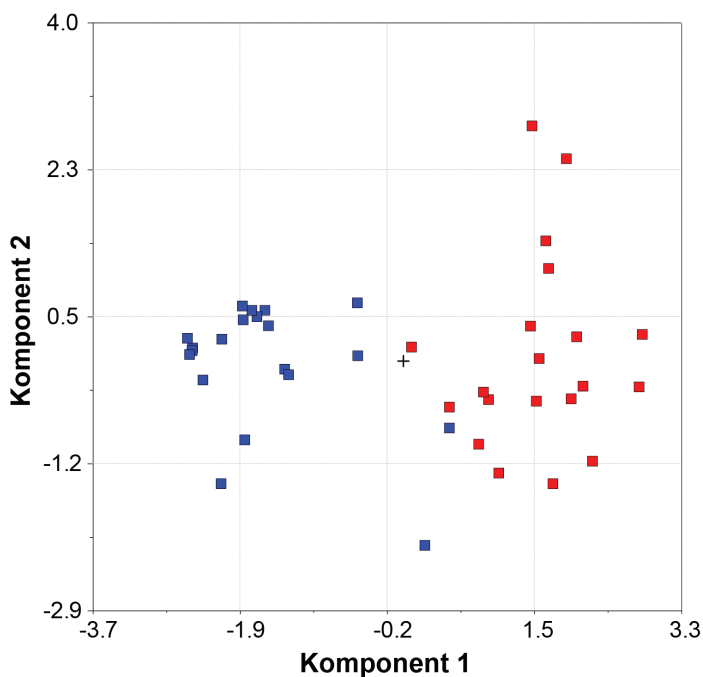
Dataanalyse

Data ble samla i to matriser, en som omfatter kapseldata og en som omfatter bladdata. Kapselmatriksen inneholder målinger av seks variable for 40 objekter (kapsler), 20 for hver underart. Bladmatriksen inneholder målinger av fem variable for 60 objekter (blad), 30 for hver underart. Kapsel- og bladmatriksene ble undersøkt separat fordi det var forskjellig antall karakterer som ble undersøkt og også forskjellig antall prøver. Likheter og ulikheter ble undersøkt med Principal Component Analysis (PCA) på autoskalerte versjoner av matrisene. PCA er en «myk» modelleringsteknikk, og ingen eksternt informasjon om mulig gruppetilhørighet ble brukt. Forskjellige tradisjonelle statistiske tester ble også kalkulert for dataene, som t-tester på de individuelle karakterene, Wilcoxon rank-sum test og Euklidske distanse mål. Multivariate analyser ble gjort med Sirius 8.5 fra Pattern Recognition Systems AS, Bergen (www.prs.no). Til de statistiske analysene ble MATLAB R2012b og dennes Statistics toolbox-versjon 8.1 brukt (the Maths Works, Inc., Natick, MS, USA).

Resultater

For å finne ut om dataene kunne deles opp i atskilte enheter, ble PCA brukt på autoskalerte data. Figur 3 viser resultatene (score plots) for kapseldataene fra PCA-kalkuleringen. De to første hovedkomponentene forklarer til sammen 71 % av variasjonen i dataene. Oppdelingen i to grupper er tydelig, sjøl om det er noe overlapping. Figur 4

Fig. 5. Resultater (score plots) for PCA fra *Saxifraga paniculata*-data. Blå firkanter: *S. paniculata* subsp. *paniculata*; røde firkanter: *S. paniculata* subsp. *laestadii*. Den første komponenten forklarer 64,5 %, den andre 18,0 %. Mer forklaring i teksten.

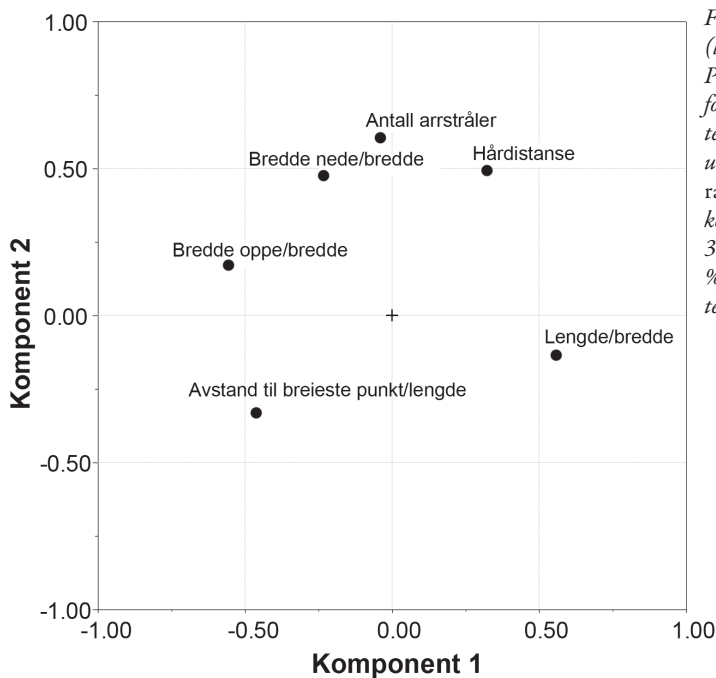


viser resultatene for bladdataene. De to første hovedkomponentene forklarer til sammen 72 % av variasjonen. Fire avvikere finnes, men sjøl om disse tas vekk får en samme konklusjon: det er en betydelig oppdeling, men ikke så tydelig som ved kapseldataene. I resten av artikkelen er bare kapseldata brukt fordi de gir tydeligere resultater.

PCA ble også brukt på *Saxifraga*-dataene (Fig. 5). Verdiene viser at de to underartene, subsp. *paniculata* og subsp. *laestadii*, er godt adskilt, og separasjonen er noe mer tydelig enn hos kapseldataene hos *Papaver*.

Mens de foregående verdiene (score plots) viser likhetene mellom objektene, viser resultatene i figur 6 (loading plots) hva som gjør at gruppene oppstår. Som figuren viser skiller *oeksendalense*-kapslene seg fra *relictum*-kapslene i at de generelt har et større lengde/bredde-forhold og en større avstand fra hårenden ned til kapseloverflata. *Relictum*-kapslene har også et større forhold mellom avstanden til punktet med størst bredde til hele lengden, det vil si forskjellig kapselform, og også forholdet mellom bredde øverst oppe og total bredde er større for denne underarten. Et dendrogram (Fig. 7) av de to første scorevektorene er konstruert med Euklidske distanse mål, og deler kapseldataene inn i to grupper, som korresponderer med de to underartene. Fem av *oeksendalense*-kapslene ble gruppert sammen med *relictum*-kapslene, noe som viser en viss overlapping.

For å se på gyldigheten av PCA-resultatene ble en t-test utført på den første scorevektoren for å se om den gjennomsnittlige scoreverdien for hver underart er signifikant forskjellig. Med et 5 % signifikansnivå blir p-verdien $5,8 \times 10^{-7}$, det vil si svært signifikant. Hvorvidt forskjeller mellom underartene er forskjellige i råmaterialet, ble



Figur 6. Resultater (loading plots) for PCA (kapseldata), som forteller hvilke karakterer som best skiller de to underartene av *Papaver radicum*. Den første komponenten forklarer 38,8 %, den andre 32,2 %. Mer forklaring i teksten.

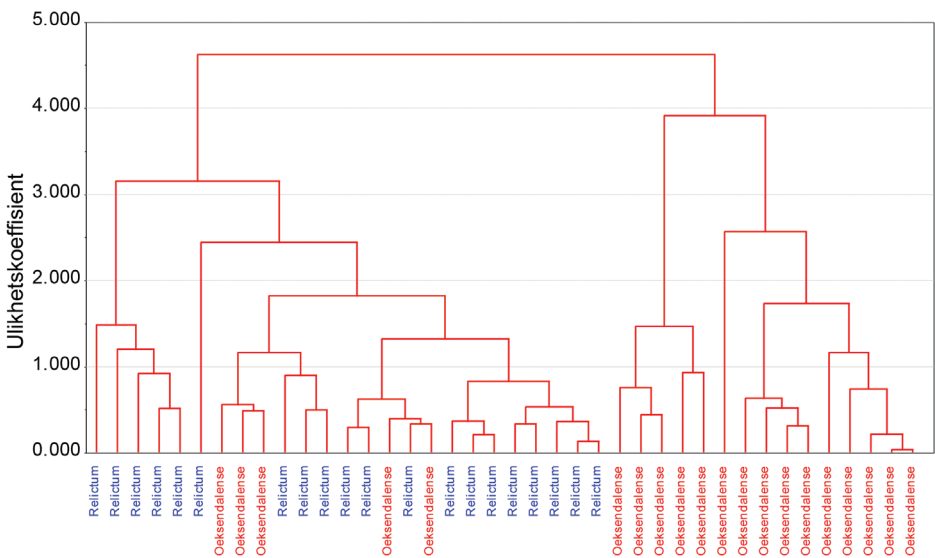
undersøkt ved å utføre Wilcoxon signed rank sum test på medianverdiene. Bonferoni-korreksjonen ble brukt for å redusere risikoen for å gjøre en Type I feil når en utfører seks suksessive univariate statistiske tester. Resultatene fra disse testene viste at de to objektgruppene, dvs. underartene, var statistisk signifikant forskjellige når det gjelder fire av de seks variable. De to variable hvor ingen forskjeller ble funnet var antall arrstråler og forholdet mellom bredden nederst på kapselen og bredden på kapselen. Disse er de samme variable som ble funnet å ha liten verdi som skillekarakterer i figur 6.

Diskusjon

Papaver radicum-forekomstene i Sør-Norge har tidligere vært sett på som bestående av fem underarter (Lid & Lid 2005), seks underarter (Knaben 1959), en underart (Nordhagen 1932, men han mente at *P. relictum* var en god art), eller fire underarter (Nilsson 2001). Knaben (1959) baserte sine undersøkelser på univariat statistikk som brukte parvise sammenlikninger av enkeltkarakterer hos underartene. Hun fant signifikante forskjeller og at forskjellene i bladkarakterer ikke var helt like de som hun fant hos kapselkarakterene. Selin & Prentice (1988) brukte multivariate metoder (kanonisk variansanalyse) og fant også betydelig variasjon mellom underartene, men de fant også at forskjellene varierte, slik at noen underarter/populasjonsgrupper var nærmere hverandre enn andre. De fant videre at variasjonen i bladdata ikke falt helt sammen med variasjonen i kapseldata.

I en serie av molekylære studier av de sørnorske *P. radicum*-underartene (Solstad et al 1999, 2003, Solstad 2008) var konklusjonen at enten var det ikke noen forskjeller eller så var forskjellene så ubetydelige at det var ingen grunn til å dele dem opp i underarter.

Vår undersøkelse av underartene *oeksendalense* og *relictum* støtter undersøkelsene til Knaben (1959) og Selin & Prentice (1988), det vil si at det er en signifikant statistisk (og dermed genetisk) forskjell mellom dem. Situasjonen er ikke uvanlig. I en undersøkelse av konsekvensene av molekylære studier for systematikken skriver Stace (2010): *“A further consequence of the use of only a very small proportion of the DNA in deducing the phylogeny is that in some closely related taxa there might actually be no differences present in those regions. Hence the absence of any differences does not necessarily mean that the total sequences are identical.”* Bateman et al (2012) sammenlikna de to nærstående artene *Platanthera chlorantha* (Custer) Reichenb. og *P. bifolia* (L.) Richard morfometrisk ved hjelp av PCA og fant at de kunne skilles på den første aksens, mens molekylære studier viste at de bare atskilte seg med et enkelt basepar. De konkluderte med at: *“Obviously, the morphological shift that is considered to be coincident with the speciation event must have been prompted by at least one change in one or more key phenotypically expressed genes, but those genetic (or epigenetic) changes are typically minute in scale and can only be detected through careful pinpointing using painstaking evolutionary-developmental genetic approaches; they will not be encountered during a typical molecular phylogenetic study, as the regions routinely sequenced are not relevant.”* Vi tror at dette også gjelder for underarter av *Papaver radicum* i Sør-Norge. Men hva slags rang skal enhetene ha: underarter, variteter eller «raser» (dvs. uten taksonomisk verdi)?



Figur 7. Dendrogram basert på de to første scorevektorene. Euklidisk distanse er brukt som avstandsmål.
Mer forklaring i teksten.

I den skandinaviske floraen finnes det et liknende tilfelle, nemlig *Saxifraga paniculata*, hvor to underarter er anerkjent og grundig dokumentert (Reisch 2008, Oland 2002, Øvstedal 1998, Lid & Lid 2005). I Nord-Norge finner vi underarten *laestadii* (Neuman) T. Karlsson, mens underarten *paniculata* finnes i Sør-Norge. Ved hjelp av data fra Øvstedal (1988) og Oland (2002), og med et tilsvarende antall karakterer som ved *Papaver*-undersøkelsene ble en PCA utført (Fig. 5). De to underartene er tydelig adskilt, og forskjellen er i omtrent samme størrelsesorden som hos de to underartene av *Papaver*. Å følge dagens praksis: å behandle *Papaver*-enhetene som underarter, må derfor være vår konklusjon ut fra undersøkelsen av subsp. *relictum* og subsp. *oeksendalense*. Men hele *P. radicum*-komplekset i Sør-Norge er komplisert og beskrives ikke godt ved formell nomenklatur.

Takk

Takk til B. Helle, Bergen for hjelp med illustrasjoner; til B. Moe, P. H. Salvesen og E. Blomsø, alle Bergen, for innsamling av fro, og til veksthusgartnerne ved Arboretet og Botanisk hage for å ha tatt godt vare på plantene.

Litteratur

- Bateman, R. M., James, K. E. & Rudall, P. J. 2012. – Contrasts in levels of morphological versus molecular divergences between closely related Eurasian species of *Platanthera* (Orchidaceae) suggests recent evolution with a strong allometric component. – *New Journal of Botany* 2(2): 100–148.
- Joliffe, I. T. 2002. – *Principal Component Analysis*. – Springer, New York. 2nd Ed. 487 pp.
- Kaderet, J. W., Preston, C. D. & Valueña, E. J. 2011. – Is Welsh poppy, *Meconopsis cambrica* (L.) Vig. (Papaveraceae) truly a *Meconopsis*? – *New Journal of Botany* 1: 80–87.
- Knaben, G. 1959. – On the evolution of the *radicatum*-group of the *Scapiflora* Papavers as studied in 70 and 56 chromosome species. – *Opera Botanica* 2 (3): 1–96.
- Lid, J. & Lid, D. T. 2005. – *Norsk flora*. – 7. utgåva. Det Norske Samlaget, Oslo. 1230 pp.
- Moe, B. & Salvesen, P. H. 2011. – Urvalmue (*Papaver radicum* ssp. *relictum*) ved Bleia i Indre Sogn. – *Årringen* 2010 (14): 97–106
- Nilsson, Ö. 2001. – *Papaver* L., pp. 346–359 in: Jonsell, B. (ed.) *Flora Nordica* vol. 2. – Bergius Foundation, Stockholm.
- Nordhagen, R. 1932. – Studien über die skandinavischen Rassen des *Papaver radicum* Rotb. sowie einige mit denselben verwechselte neue Arten. – *Bergen museums Årbok* 1931, *Naturvitenskapelige Rekke* 12: 1–50.
- Oland, V. H. 2002. – *Variasjon innen og mellom populasjoner av bergjunker (Saxifraga paniculata Miller) i Norge, belyst ved morfometriske og molekylære metoder*. – Cand.scient-thesis, University of Bergen. 117 pp.
- Øvstedal, D. O. 1998. – Variation within some Nordic *Saxifraga* species (Saxifragaceae). – *Nordic Journal of Botany* 18: 171–181.
- Reisch, C. 2008. – Glacial history of *Saxifraga paniculata* (Saxifragaceae): molecular biogeography of a disjunct arctic-alpine species from Europe and North America. – *Biological Journal of the Linnean Society* 93(2): 385–398.
- Selin E. & Prentice, H.C. 1988. – Morphometric analysis of disjunct *Papaver radicum* (Pa-

- paveraceae) populations in southern Norway. – *Plant Systematics and Evolution* 159: 237–247.
- Solstad, H. 2009. – *Taxonomy and evolution of the diploid and polyploid Papaver sect. Meconella (Papaveraceae)*. – Doctoral Dissertation, University of Oslo. 30 pp.
- Elven, R. & Nordal, I. 1999. – Are there too many species and subspecies in the *Papaver radicatum* complex?. In: Nordal, I. & Razzhivin, V.Y. (eds.): The species concept in the High North- a panarctic flora initiative. – *Det Norske Vitenskaps-Akademi. I. Mat.- Naturv. Klasse. Skrifter Ny Serie* No. 38, pp. 281–294.
 - 2003. – Isozyme variation among and within North Atlantic species of *Papaver* sect. *Meconella* (Papaveraceae) and taxonomic implications. – *Bot. Journal of the Linnean Society* 143: 255–269.
- Stace, C.A. 2010. – Classification by molecules: What's in it for field botanists?. – *Watsonia* 28(2): 103–122.