

Tartu Ülikool  
Loodus- ja täppisteaduste valdkond  
Ökoloogia ja maateaduste instituut  
Botaanika osakond

Marianne Kaldra

Erikaelsus hariliku nurmenuku (*Primula veris*) killustunud  
populatsioonides

Bakalaureusetöö  
Ökoloogia ning elustiku kaitse  
12 EAP

Juhendaja: Tsipe Aavik

Tartu 2018

## **Infoleht**

### **Erikaelsus hariliku nurmenuku (*Primula veris*) killustunud populatsioonides**

Käesoleva töö eesmärgiks on uurida kasvukohtade killustumise mõju heterostüülse hariliku nurmenuku (*Primula veris*) morfoloogiliselt eri tüüpi isendite (nii-öelda S- ja L-morfid, mille tolmukate ja emaka pikkus isetolmlemise vältimiseks erineb) tasakaalule ning analüüsida selle võimalikke evolutsioonilisi tagajärgi. Kirjanduslik pool annab ülevaate kasvukohtade killustumise mõjust elurikkusele, erikaelsusest ning sellest, millised tagajärjed on killustumisel erikaelsusele. Töö hõlmab ka uurimuslikku osa killustunud kasvukohtade hariliku nurmenuku populatsioonidest. Uuritakse, millised kasvukohtade killustumisega seotud tegurid võivad mõjutada S- ja L-morfide osakaalu killustunud populatsioonides ning kas morfide tasakaalust hälbumisega kaasneb mõju ka geneetilisele mitmekesisusele.

Märksõnad: kasvukohtade killustumine, killustumise tagajärjed, harilik nurmenukk, erikaelsus, morfide tasakaal, geneetiline mitmekesisus, looduskaitse

CERCS teaduseriala kood: B270 Taimeökoloogia

### **Heterostyly in fragmented *Primula veris* populations**

The aim of this thesis is to study the effects of habitat fragmentation on the balance of S- and L-morphs (individuals, where within-morph compatibility is avoided by varying the length of style and stamens) in populations of *Primula veris* and to analyse its possible evolutionary consequences. The literature review gives an overview about the effects of habitat fragmentation on biodiversity, heterostyly and about the consequences of fragmentation for heterostyly. Current research also includes a study about heterostyly in fragmented *Primula veris* populations. The study focuses on examining the effect of habitat fragmentation on the proportion of S- and L-morphs. In addition, the study examines whether the deviation of morph frequencies may affect the genetic diversity of study populations.

Keywords: habitat fragmentation, consequences of fragmentation, *Primula veris*, heterostyly, morph balance, genetic diversity, nature conservation

CERCS research field code: B270 Plant ecology

## Sisukord

Infoleht .....	2
1. Sissejuhatus .....	5
1.1. Killustumise tagajärjed taimede paljunemistunnustele .....	6
1.2. Erikaelsus ja selle sõltuvus kasvukohtade killustumisest.....	10
1.3. Uurimisküsimused.....	13
2. Materjal ja meetodika.....	14
2.1. Uurimisliik .....	14
2.2. Alade valik .....	15
2.3. Välitööd.....	17
2.4. Geneetilised uuringud .....	18
2.5. Andmeanalüüs.....	19
3. Tulemused .....	21
3.1. S- ja L-morfide tasakaalust hälbimist mõjutavad tegurid .....	21
3.2. S- ja L-morfide tasakaalust hälbimise mõju geneetilisele mitmekesisusele.....	22
4. Arutelu.....	24
4.1. Kasvukohtade killustumise mõju nurmenuku S- ja L-morfide osakaalule.....	24
4.2. Nurmenuku L-morfide osalise iseviljastumisvõime mõju L-morfide osakaalule .....	26
4.3. S- ja L-morfide tasakaalust hälbimise seos populatsioonide geneetilise mitmekesisusega ..	27
4.4. Järeldused.....	29
Kokkuvõte .....	31
Summary .....	32
Tänuavaldused.....	33
Kasutatud kirjandus.....	34
Internetiallikad .....	39

“I do not think anything in my scientific life has given me so much satisfaction as making out the meaning of the structure of heterostyled flowers.” Charles Darwin, 1876

# 1. Sissejuhatus

Kasvukohtade killustumine ehk fragmenteerumine on protsess, mille tagajärjel suuremad kasvukohalaigud jagunevad väiksemateks ja üksteisest ruumiliselt eraldatud kasvukohalaikudeks (Didham, 2010). Kasvukohtade killustumine koos teiste teguritega nagu elupaikade täielik hävimine, kliimamuutused ja keskkonnasaaste on ühed olulisemad elurikkuse kao põhjused (Pereira *et al.*, 2010; Haddad *et al.*, 2015). Kiire ja pidev tööstuste arenemine, inimarvukuse kasv, linnapiirkondade laienemine ja kasvav tarbimine on suureks koormuseks looduslikele ökosüsteemidele ja nende jätkusuutlikule toimimisele (IPBES, 2018). Selle protsessi tulemusena on looduslikud elupaigad muutunud viimase sajandi jooksul märkimisväärselt väiksemaks ning isoleeritumaks. Elurikkuse püsijäämist mõjutab allesjäänud elupaigafragmentide hulk, pindala ja nende omavaheline sidusus (Haddad *et al.*, 2015). Nende muutuste valguses on aina olulisemaks muutumas looduslike ökosüsteemide ja elurikkuse kaitse alaste teadmiste koondamine ning nende põhjal jätkusuutliku looduskaitsetegevuse edendamine, kuna samas tempos jätkamine põhjustaks jätkuvat elurikkuse kadu.

Käesoleva töö eesmärgiks on anda ülevaade kasvukohtade killustumise mõjust taimede paljunemistunnustele nurmenuku erikaelsuse ehk heterostüülia näitel. Uurimuslik osa viidi läbi LIFE + Nature projekti „Elu alvaritele“ raames, kus lisaks loopealsete taastamisele viiakse läbi bioloogilise mitmekesisuse kaardistamine. Käesolevas töös uuritakse kasvukohtade killustumisega seotud aspektide mõju erikaelsusele ning sellest sõltuvale geneetilisele mitmekesisusele. Analüüsitakse leitud tulemuste võimalikke tagajärgi ning pakutakse soovitusi edaspidisteks uuringuteks ja kaitse korraldamiseks.

### **Sõnastik: töös kasutatud olulised mõisted**

Kuna antud töös kasutatakse inglise keelest tuletatud mõisteid, millele ei pruugi olla tuntud eestikeelset vastet või mille sisuline tähendus pole laiemalt teada, tuuakse siin lühidalt välja nende eestikeelsed seletused. Lisatud on veel mõned töö kontekstis olulised mõisted, mis põhinevad geneetika õpiku sõnastikul (Heinaru, 2012). Esmakordsel tekstis mainimisel on sõnad tähistatud tärniga.

Distüülia (*distyly*) – kahte tüüpi morfoloogiliselt erinevate isendite esinemine populatsioonis. Morfoloogiline erinevus seisneb tolmukate ja emaka kõrguses.

Geenivool (*gene flow*) – geenide levik populatsioonide vahel migratsiooni kaudu. Taimede puhul toimub levik leviste ja õietolmu levimise teel.

Geenitriiv (*genetic drift*) – geeni alleelide sageduse juhuslikud muutused järjestikus põlvkondades juhuslike kõrvalekallete tõttu.

Herkogaamia (*herkogamy*) – tolmukapeade ja emakasuudme ruumiline eraldatus taimes.

Homostüülia (*homostyly*) – emakakael ja tolmukapead ei ole taimes kõrguse poolest eristunud.

Lähiristumine (*inbreeding*) – populatsiooni keskmisest suurema geneetilise sugulusega isendite omavaheline ristumine.

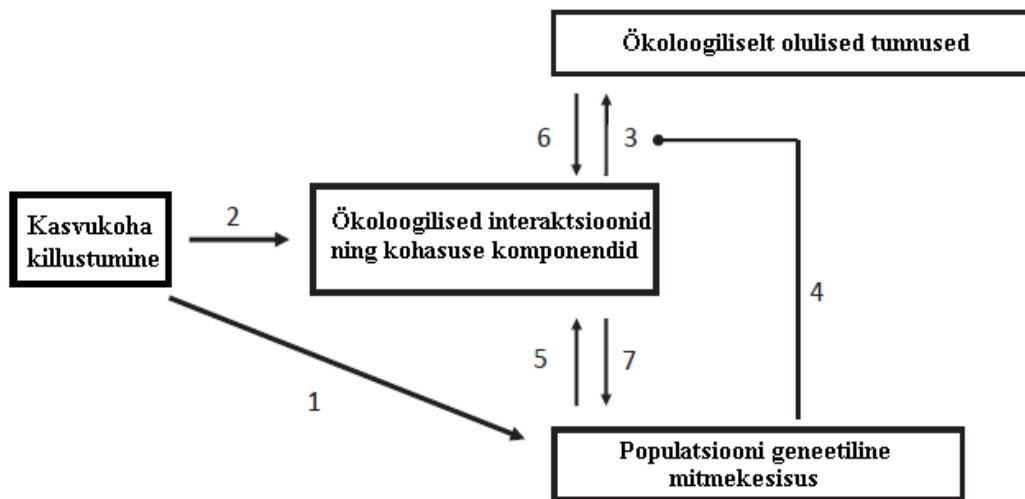
Lähiristumissurutus (*inbreeding depression*) – populatsiooni elujõulisuse langus lähiristumise tulemusena.

#### ***1.1. Killustumise tagajärjed taimede paljunemistunnustele***

Kasvukohtade killustumine kahandab liigirikkust ning mõjutab taimepopulatsioonide demograafilist ja geneetilist struktuuri, mis väljendub taimepopulatsioonide suuruse muutustes, vähenenud levikus kasvukohalaikude vahel, tolmeldajate interaktsioonide muutustes, servaeftis ning muudes tegurites (Honnay *et al.*, 2005; Piessens *et al.*, 2005). Kahanenud populatsioonide suurus ning sellega sageli kaasnev geneetilise mitmekesisuse langus vähendavad taimepopulatsioonide kohasust ning võimet kohaneda keskkonnatingimuste muutustega (Leimu *et al.*, 2006, 2010). Sealjuures pole fragmenteerumisest mõjutatud vaid haruldased liigid. Ka tavalisemad ning laialtlevinud liigid võivad killustumise suhtes olla sama tundlikud või isegi tundlikumad kui haruldased

liigid (Van Rossum *et al.*, 2004; Honnay & Jacquemyn, 2007). Seega avaldab kasvukohtade killustumine märkimisväärset mõju elurikkuse erinevatele komponentidele, kahandades maastiku skaalas kasvukohtade mitmekesisust, koosluste liigilist mitmekesisust kui ka liigisisest geneetilist mitmekesisust.

Lisaks kasvukohtade kadumise ja isolatsiooni negatiivsele mõjule liigilisele ja geneetilisele mitmekesisusele võib kasvukohtade killustumine märkimisväärselt mõjutada liikidevahelisi interaktsioone ning selle kaudu avaldada täiendavat kaudset mõju populatsioonide geneetilisele mitmekesisusele lisaks killustumise otsestele mõjudele (Joonis 1) (Jacquemyn *et al.*, 2012; Valiente-Banuet *et al.*, 2014). See omakorda võib kaasa tuua mitmeid evolutsioonilisi muutusi taimede kohastumises. Killustumise otseseid mõjusid on üsna palju uuritud, kuid selle kohta, kuidas fragmenteerumine mõjutab interaktsioone ja selle kaudu teisi taimede tunnuseid, on veel võrdlemisi vähe teadmisi.



Joonis 1. Ülevaateskeem kasvukoha killustumise otsestest ja kaudsetest tagajärgedest taimede populatsioonidele (Jacquemyn *et al.*, 2012).

Otseselt põhjustab killustumine näiteks populatsiooni suuruse vähenemist, mille tagajärjel kasvanud geenitriivi\* tõttu võivad kaduma minna osad alleelid ning suurenenud lähiristumise\* tõttu väheneb populatsiooni geneetiline mitmekesisus (Joonis 1, nool 1) (Wright, 1931; Young *et al.*, 1996). Kaudsed mõjud avalduvad läbi ökoloogiliste interaktsioonide (näiteks tolmeldamine) ja erinevate kohasuse komponentide (Joonis 1, nool 2). Taimedele ökoloogiliselt olulised tunnused (näiteks paljunemistunnused) võivad fragmenteerumise poolt põhjustatud valikusurve all hakata evolutsioneeruma (Joonis 1,

nool 3) (Jacquemyn *et al.*, 2012). Geenivoolu\* puudumine killustunud populatsioonide vahel võib aga kahandada populatsioonide geneetilist mitmekesisust, mis omakorda võib vähendada populatsioonide võimet evolutsiooniliste muudatustega muutunud valikusurvele vastata (Joonis 1, nool 4) (Merilä & Crnokrak, 2001; Jacquemyn *et al.*, 2012). Evolutsioonilised muutused fenotüübi omadustes võivad omakorda muuta ökoloogilisi interaktsioone (Joonis 1, nool 6) (Schoener, 2011). Vähenenud kohasus ja muutunud ökoloogilised interaktsioonid võivad omakorda mõjutada taimepopulatsioonide geneetilist mitmekesisust. Selline tagasiside on tuntud ka kui väljasuremiskeeris (Joonis 1, nool 7) (Gilpin & Soulé, 1986). Kasvukohtade killustumine mõjutab seega populatsioonide elujõulisust nii otsesel kui ka kaudsel moel muutunud ökoloogiliste interaktsioonide kaudu, tuues kaasa võimalikke evolutsioonilisi muutusi.

Killustumine on märkimisväärselt mõjutanud taim-tolmeldaja interaktsioone (Valiente-Banuet *et al.*, 2014), kuna killustumise tagajärjel kahaneb tolmeldajate arvukus ja mitmekesisus, mis omakorda kahandab tolmeldamise efektiivsust. Samas ei mõjuta tolmeldajate kadumine kõiki taimeliike samamoodi. Tundlikkus killustumisest põhjustatud tolmeldajate kao suhtes sõltub konkreetsest liigist ja tema tolmeldajatest: üldiselt on enim mõjutatud isesobimatud, haruldasemate tolmeldajatega ning pikaealise seemnepangata taimeliigid (Aizen & Feinsinger, 1994; Honnay *et al.*, 2005; Piessens *et al.*, 2005). Killustumise tagajärjel toimunud muutused tolmeldamisinteraktsioonides võivad viia tolmeldajatest sõltuvate taimeliikide kadumiseni, kui need liigid ei ole suutelised piisavalt kiiresti kohastuma vähenenud tolmeldajate kättesaadavusega (Biesmeijer *et al.*, 2006).

Vähenenud tolmeldamise kättesaadavuse tingimustes sõltub evolutsiooni suund muutuste iseloomust. Kui killustumise tagajärjel on õietolmu kättesaadavus tugevalt ja kehtvalt kahanenud, on soositud kas risttolmlemist edendavad taimeomadused või vastupidi, omadused, mis tagavad iseviljastumise (Jacquemyn *et al.*, 2012). Kui tolmeldajate arvukus ja olemasolu ajas varieeruvad, võib taimedel välja kujuneda nii-öelda segaviljastumine (*mixed mating system*), mille puhul esinevad korraka rist- kui ka isetolmlemine (Jacquemyn *et al.*, 2012). Inimtekkeliste häiringute korral on tõenäolisem isetolmlemist soodustavate omaduste väljakujunemine (Harder & Aizen, 2010). Lisaks on killustunud kasvukohtade populatsioonides täheldatud, et tolmeldajate hea kättesaadavuse korral on herkogaamia\* ehk tolmukapeade ja emakasuudmete ruumiline eraldatus märkimisväärselt suurem kui väikestes ja tolmeldajatevaestes populatsioonides (Luijten *et al.*, 1999; Brys &



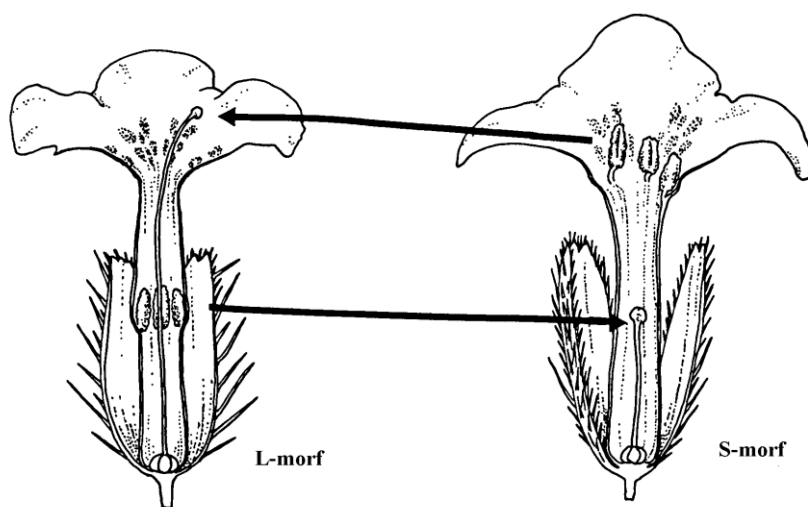
Jacquemyn, 2012). Tasakaal kлонаalse ja sugulise paljunemise vahel võib killustumise korral kalduda pigem kлонаalse paljunemise kasuks (Rossetto *et al.*, 2004). Heterostüülsetele liikidele võib risttolmemiselt iseviljastumisele üleminek tähendada heterostüülia asendumist isesobiva homostüüliaga\* (Charlesworth & Charlesworth, 1979; Barrett & Shore, 1987).

Võrreldes kasvukohtadega, kus on piisavalt tolmeldajaid, võivad taimedel, mis kasvavad tolmeldajatevaestes tingimustes, kujuneda väiksemad õied ning kahaneda õite arv, kuna tolmeldajate puudumisel ei ole kasulik investeerida omadustesse, millest kasu taimetele tolmeldajate puudumisel ei esine (Brys & Jacquemyn, 2012). Samas võivad mõnede liikide õied fragmenteerunud tingimustes hoopiski suuremaks muutuda, kuna suuremad taimed on tolmeldajatele üldjuhul atraktiivsemad, mis on killustumisel kasulik kohastumus (Jacquemyn *et al.*, 2012). Paljud putuktolmlevad liigid toodavad nektarit meelitamiseks rohkem tolmeldajaid ligi, tõstes sellega oma paljunemisedukust (Mitchell, 1993). Seetõttu võib väikestes ja isoleeritud taimepopulatsioonides ning kahanenud tolmeldajate arvukuse juures suure nektaritoodanguga isenditel olla suurem eelis, kuna nad on tolmeldajatele atraktiivsemad kui väikese nektaritoodanguga isendid (Jacquemyn *et al.*, 2012).

Killustumise tagajärjel tekkinud ruumiline isolatsioon mõjutab ka populatsioonidevahelisi levikumustreid ja sageli peavad isendid sobivasse kasvukohta jõudmiseks läbima kasvuks sobimatu maastiku (Ewers & Didham, 2006). Väikestes ja isoleeritud populatsioonides on eelistatud sellise genotüübiga isendid, kellel on vähenenud levimisvõime, kuna seemnete levimisel killustunud kasvukohtade vahel on tõenäoline, et levis langeb hoopiski ebasobivasse kasvukohta (Cheptou *et al.*, 2008). Seetõttu on fragmenteerunud kasvukohtades mittelevivade seemnete osakaal võrreldes hea levimisvõimega seemnetega tunduvalt suurem kui sidusates populatsioonides (Cheptou *et al.*, 2008). Madalama levimisedukuse arvelt tasuks pigem panustada teistesse kohasusega seotud omadustesse (Jacquemyn 2012). Kui aga kohalik väljasuremine on väga kõrge ja tühjadesse kasvukohalaikudesse levikut ei toimu pika aja jooksul, võib valikusurve tasakaal muutuda ning siis võib levimisel taas olla evolutsiooniline eelis (Heino & Hanski, 2001).

## 1.2. Erikaelsus ja selle sõltuvus kasvukohtade killustumisest

Erikaelsus ehk heterostüülia on taimedel esinev polümorfismi vorm, mille puhul taimede populatsioonid koosnevad kahest (ingl. k. *distyly*) või kolmest (ingl. k. *tristyly*) geneetiliselt määratletud morfoloogiliselt erinevatest isenditest (morfidest), mille peamine erinevus seisneb tolmukate ja emakakaela kõrguses (Ganders, 1979; Joonis 2). Selline emakakaela ja tolmukate ruumiline eraldatus tagab iseviljastumise vältimise sellega, et õietolm ei satuks sama isendi emakasuudmele. Heterostüülia väljakujunemise põhjusteks arvatakse olevat lähiristumise vältimine ning efektiivsem õietolmu vahetamine eri morfide vahel (Barrett, 1992). Heterostüülia on küllaltki haruldane paljunemissüsteem, mis on evolutsioneerunud eraldiseisvalt mitmel korral vähemalt 28-s õistaimede perekonnas (Ganders, 1979; Barrett, 2002). Keerukama heterostüülia edukust võrreldes homostüülia ja partenogeneesiga võib seletada pikaajalisema eelisega, kuna suguliselt paljunevatel liikidel on väiksem tõenäosus väljasuremisele kui seda on partenogeneetilistel liikidel (Boyd *et al.*, 1990).



Joonis 2. Distüülsetel liikidel paiknevad emakasuue ja tolmukad kahel morfil vastastikku asendites. L-morfil asub emakasuue tolmukatest kõrgemal, S-morfil vastupidi. Nool näitab viljastumiseks sobivat tolmeldamise suunda (Ganders, 1979).

Distüülsete\* taimeliikide kaks õietüüpi on ingliskeelses teaduskirjanduses viidatud kui *long-styled* ja *short-styled morphs*, sünonüümidenä on levinud väljendid *pins* ja *thrums* (Darwin, 1877). Tulenevalt sellest kasutatakse ka käesolevas töös eestikeelsete vastetena vastavalt väljendeid L-morf (*long-styled* ehk pika emakakaelaga) ja S-morf (*short-styled*

ehk lühikese emakakaelaga). Morfoloogialt erinevad S-morf ja L-morf tolmukapea ja emakakaela asendi poolest. S-morf ehk *short-styled* taimel paikneb emakakael õiekrooni sees ning tolmukapead ulatuvad õie ääreni või isegi kõrgemale. L-morf ehk *long-styled* taimel esinevad tolmukapead aga õiekrooni sees ning emakakael ulatub neist kõrgemale (Van Rossum & Triest, 2006). Kolme morfiga liikide puhul esineb L-morfil pikk emakakael ja kaks komplekti tolmukaid, üks on madal ja teine keskmise pikkusega. S-morfil on lühike emakakael ja keskmised ning pikad tolmukad. Kolmas ehk keskmine morf omab keskmise pikkusega emakakaela ning pikki ja lühikesi tolmukaid (Ganders, 1979).

Heterostüülsetel liikidel esineb sageli ka sporofüütiline ebasobivus, mille puhul tolmutterad ei ole võimelised idanema sama isendi ja ka morfi emakasuudmel, mis omakorda vähendab taime- ja morphisest viljastumist ning tolmukate kasvu. Eelnevalt kirjeldatud ebasobivus tagab, et eri taimede ja morfide vahel toimuks optimaalne viljastumine, samas taime- ja morphisisel õietolmu vahetamise puhul toodetakse seemneid väga vähe või seemnete valmimine üldsegi puudub (Van Rossum & Triest, 2006). Keller jt. (2014) poolt läbiviidud eksperimentide tulemused viitavad sellele, et vastastikune tolmukapeade ja emakasuudme ruumiline eraldatus ja morphisene- ning sporofüütiline isesobimatus tagavad efektiivse risttolmlemise. Kui tegu on distüülse populatsiooniga, peaks paarumissüsteem morfide suhte stabiliseerima võrdseks (50% isenditest on L-morfid ja 50% on S-morfid) (Boyd *et al.*, 1990). L-morfide õietolm on märkimisväärselt väiksem kui S-morfil (näiteks hariliku nurmenuku L-morfil keskmiselt 18.1 µm, S-morfil 29.5 µm), mis eeldatavalt kinnitub ka kergemini lühematele S-morfi papillidele ja vastupidi (Brys & Jacquemyn, 2009). Samuti toodavad L-morfid S-morfidest enam õietolmu terasid (hariliku nurmenuku L-morfil keskmiselt 211 000 tera taime kohta, S-morfil 87 000 tera) (Ornduff, 1980).

Kuigi looduslikes tingimustes on isetolmlemine väga ebatõenäoline (Richards & Ibrahim, 1982), on leitud, et L-morf on osaliselt võimeline ise viljastumiseks (Wedderburn & Richards, 1990). Näiteks nurmenuku puhul annab L-morf isetolmlemisel 14,5%-l juhtudest elujõulisi seemneid, seejuures aga S-morfi puhul on ise viljastumine väga ebatõenäoline (umbes 0,6%). Tulenevalt morfide erinevustest peaks L-morfidel olema väikestes populatsioonides ja seega ka killustunud kasvukohtades eelis S-morfide ees, kuna L-morfid on osalise ise viljastumise tõttu suhteliselt kõrgema paljunemisedukusega (Van Rossum *et al.*, 2006). Siiski pole ükski morphisene viljastumine nii fertiilne, kui see on morfide vahelise ristumise korral. Samas ka morfidevaheline ristumine ei taga aga alati 100%-list

edukust viljastumisel. Madalama edukusega viljastumist võivad põhjustada näiteks ebapiisav tolmlemine ja ristumise halb ajastus (Wedderburn & Richards, 1990).

Muidu heterostüülsetes varretu priimula (*Primula vulgaris*) populatsioonides (Crosby, 1940; Boyd *et al.*, 1990) on harva kaardistatud ka kolmanda morfi esinemist, mille puhul paiknevad emakasuu ja tolmukapead samal tasandil, koondades endas mõlema morfi tunnuseid. Homostüülset vormi põhjustab kolmas alleel  $s'$ , mis on dominantne  $s$  alleeli suhtes ja retsessiivne  $S$  alleeli suhtes (Boyd *et al.*, 1990). Homostüülia võib hakata välja kujunema killustunud populatsioonides, kuna piiratud tolmeldamise tingimustes on isesobival homostüülia selge evolutsiooniline eelis (Charlesworth & Charlesworth, 1979; Barrett & Shore, 1987). Samuti on homostüülse vormiga nurmenukud lisaks iseviljastumisele võimelised ka L-morfe viljastama (Boyd *et al.*, 1990; Barmantlo *et al.*, 2017). Puhtalt heterostüülises populatsioonis on eeldatavalt morfide tasakaal võrdne, aga kui populatsioonis leidub ka isendeid kellel erikaelsust ei esine, siis morfide tasakaalu stabiliseerimine enam ei toimi ning  $S$ -morfide madalam ellujäämine võib kaasa aidata homostüülia levikule, kuna see leevendaks homosüütlsete isendite õietolmu konkurentsi  $L$ -morfidele (Boyd *et al.*, 1990).

Killustumise tagajärjel võib heterostüülia ajapikku populatsioonist ka täielikult kaduda. Näiteks on tuvastatud selliseid muidu distüülse liigi *Nymphoides montana* populatsioone, kus ühe morfi kadumise tulemusena on säilinud ainsa reproduktiivse viisina kлонаalne paljunemine ning sugulise paljunemise panus kohasusse puudub (Haddadchi *et al.*, 2014). Seetõttu pole sugulise paljunemise säilitamine enam kasulik ning see kohastumus kaob ajapikku ära. Barmantlo jt. (2017) uurisid kolme varretu priimula (*Primula vulgaris*) väikest jääkpopulatsiooni ja pakkusid võimalusi fragmenteerumise tagajärgede leevendamiseks. Uurimuse käigus leiti, et ühes kolmest uuritud populatsioonist oli homostüülia juba välja kujunemas. Killustunud maastikes on homostüülia kasulik, kuna iseviljastumise tõttu ei sõltu taimed edukaks paljunemiseks enam tolmeldajatest, kelle arvukust fragmenteerumine omakorda tugevalt mõjutab. Fragmenteerumist ja tolmeldamist koos käsitletud uuringu (Segal *et al.*, 2006) tulemused viitavad sellele, et kasvukohtade killustatuse paralleelne roll lähiristumissurutise\* suurendamisel ning tolmeldajate arvukuse kahanemises viib lõpuks märkimisväärse sugulise paljunemise vähenemiseni. Eelpool mainitud uuringud kinnitavad, et kasvukohtade killustumine soodustab ka heterostüülia kadumist.

Killustumise tagajärjel asetleidnud muutused heterostüülsete populatsioonide morfade tasakaalus võivad viia geneetilise varieeruvuse kahanemiseni (Van Rossum & Triest, 2006; Meeus *et al.*, 2012), millega võib kaasneda populatsioonide elujõulisuse vähenemine ja lähiristumissurutis. Väikestes populatsioonides on morfade 50:50 tasakaalust hälbimine oluline lisafaktor, mis mõjutab populatsioonide pikaajalist püsijäämist (Endels *et al.*, 2002). Paigast nihkunud morfade tasakaal tähendab väiksemat valikut sobiva partneri näol, mistõttu geneetilise materjali vahetamise efektiivsus langeb. Eriti ilmneb see väikestes populatsioonides, kuna väikestes populatsioonides on suurem morfade tasakaalust hälbimine tõenäolisem (Endels *et al.*, 2002; Jacquemyn *et al.*, 2002; Kery *et al.*, 2003).

### ***1.3. Uurimisküsimused***

Elupaikade kadu ja killustumine on üheks olulisemaks teguriks globaalse elurikkuse vähenemises (Haddad *et al.*, 2015). Hiljuti on hakatud arutlema selle üle, millist rolli võib mängida kasvukohtade killustumine evolutsiooniliste protsesside kujundamises (Jacquemyn *et al.*, 2012; Cheptou *et al.*, 2017). Mitmed uuringud annavad alust arvata, et kasvukohtade fragmenteerumisel võivad tõepoolest olla evolutsioonilised tagajärjed (Pharo & Zartman, 2007; Haddadchi *et al.*, 2014; Barmantlo *et al.*, 2017). Paremad teadmised ökoloogiliste ja evolutsiooniliste protsesside omavaheliste seoste kohta aitaksid paremini planeerida ka looduskaitsetegevust killustunud maastikes.

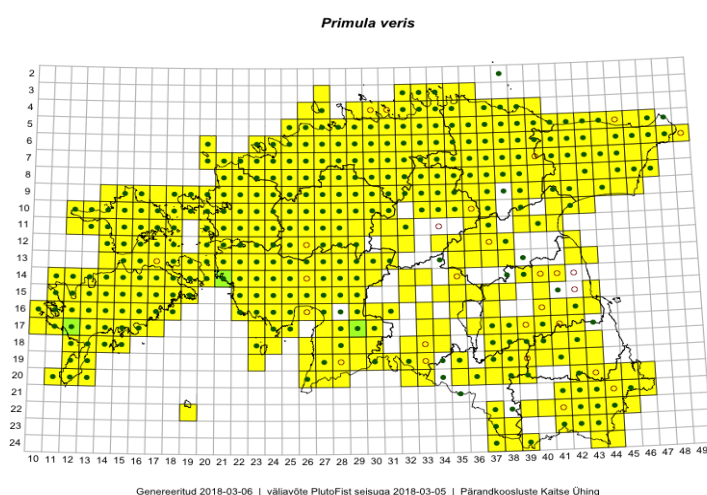
Käesoleva töö eesmärk on hinnata, kas ja mil määral võib taimepopulatsioonide killustumine mõjutada paljunemisega seotud tunnuseid ning sellest sõltuvalt geneetilist mitmekesisust. Uurimissüsteemina kasutatakse heterostüülse hariliku nurmenuku populatsiooni Lääne-Eesti loopealsetel, mille pindala on viimase sajandi jooksul kahanenud enam kui 70% (Laasimer, 1965). Seega sobivad loopealsed hästi süsteemiks, mille abil uurida kiirete maastikumuutuste mõju elurikkusele ning võimalikele evolutsioonilistele protsessidele. Tuginedes eelnevalt käsitletud infole püstitati antud töös uurimiseks järgmised hüpoteesid:

- 1) kasvukohtade killustumine põhjustab morfade tasakaalu hälbimist eelkõige väiksemates populatsioonides;
- 2) killustunud populatsioonides on edukam L-morf;
- 3) morfade tasakaalu hälbimisega kaasneb nurmenuku populatsioonides madalam geneetiline mitmekesisus.

## 2. Materjal ja meetoodika

### 2.1. Uurimisliik

Uurimisliigiks valiti harilik nurmenukk *Primula veris* L., mis on nurmenukuliste sugukonda kuuluv mitmeaastane rosetjas rohttaim. Kasvukohtadest eelistab ta kuivi lubjarikkaid niite ja rohumaid (Brys & Jacquemyn, 2009). Eestis on harilik nurmenukk üpris laialdaselt levinud, olles sagedasem Põhja- ja Lääne-Eestis (Joonis 3). Harilik nurmenukk on risttolmlev ja seega sõltub tema levimise ja paljunemise edukus teda tolmeldavatest putukatest. Õitsemine algab mais ning see kestab tavaliselt 3-4 nädalat (Brys & Jacquemyn, 2009). Peamisteks tolmeldajateks peetakse kiletiivaliste seltsi kuuluvaid kimalasi, aga täheldatud on ka liike liblikaliste ja kahetiivaliste seltsidest (Van Rossum & Triest, 2006). Seemned valmivad juulis või augustis ning üldiselt on nad kergesti levitatavad lühikestel vahemaadel ka tuule ja vihma abil, peale putukate pole teiste loomade abil seemnete levitamine aga kuigi tõenäoline (Brys & Jacquemyn, 2009). Keskmise seemnete levikukaugus on väga madal (~11-12 cm), õietolm võib levida kuni 12 meetrit (Richards, A.J. & Ibrahim, 1978), kuid see sõltub konkreetsest tolmeldajaliigist, nii et harvemini võib aset leida ka õietolmu levik üksteisest kaugemal paiknevate isendite vahel. Paljunemine toimub üldjuhul seemneliselt, kuigi esineda võib ka vegetatiivset paljunemist lateraalsete rosettide moodustamisega või risoomi harunemise näol (Tamm, 1972; Van Rossum & Triest, 2007).

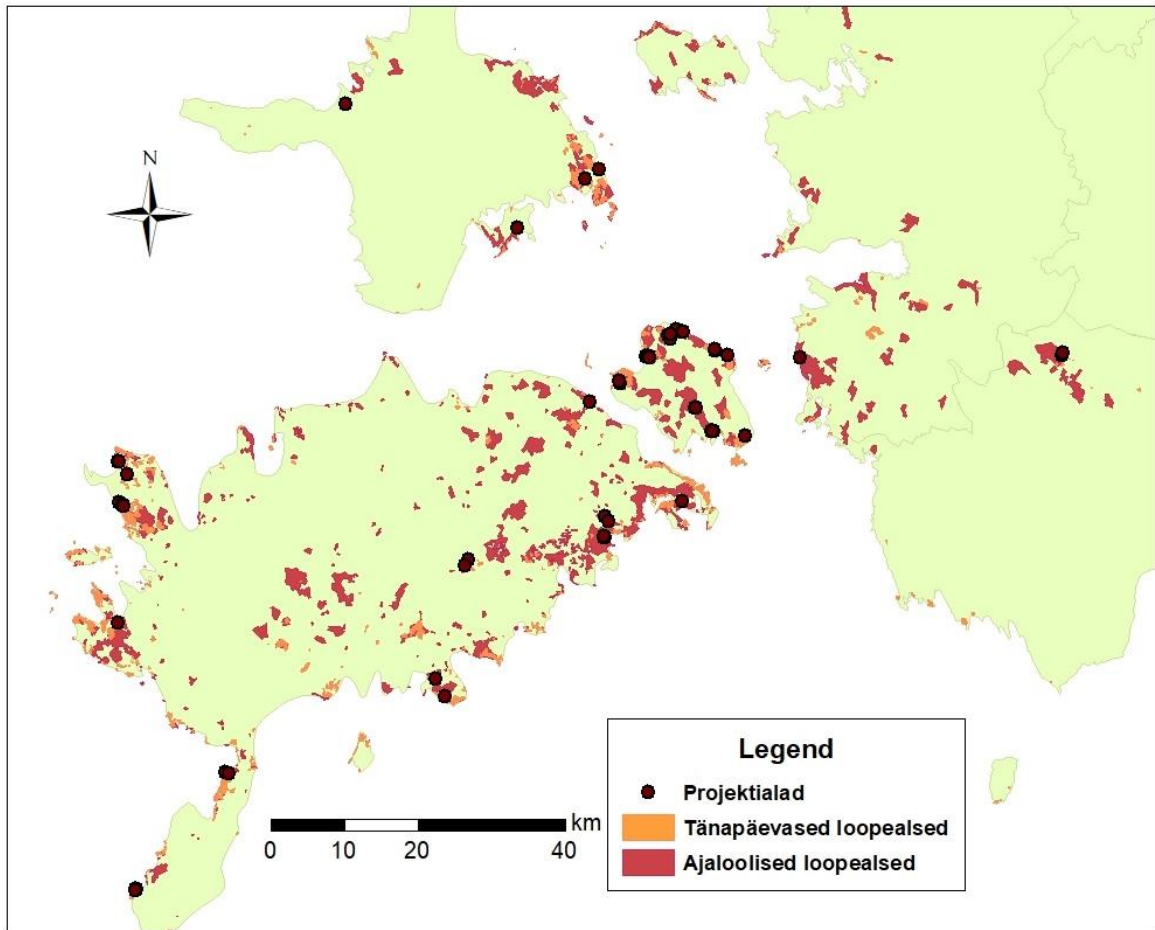


Joonis 3. Hariliku nurmenuku levikukaart. Kollasega tähistatud ruudud on vaatluste kohad, rohelised eksemplaride kogumiskohad. Mustad täpid näitavad kaasaegseid leiukohti, sest tühjad täpid 1921-1970 aastate andmeid (Eesti taimede uus levikuaatlas).

Harilik nurmenukk on väga tüüpiline heterostüülne liik. Kuna nurmenuku perekonnas on erikaelsus väga levinud ning tegu on võrdlemisi hea levikuga taksoniga, ulatuvad selle perekonna bioloogiaga seotud uuringute juured 19. sajandi keskpaika (Darwin, 1877). Üldiselt ongi just nurmenuku perekonda peetud heterostüülia klassikaliseks mudeliks (Barrett, 1992). Erikaelsuse esinemist põhjustab supergeeni kompleks, mille moodustavad kaks alleeli S ja s. L-morfi fenotüüpi põhjustab retsessiivne homosügoot ss ning puhtalt heterostüülses populatsioonis on S-morfi näol tegu heterosügootiga (Lewis, 1954). Huu jt. (2016) identifitseerisid nurmenukul CYP734A50 geeni, mis esineb ainult S-morfi haplotüübil väljendudes lühikeses emakakaelas. Nimetatud geeni mitte aktiveerumisel või selle puudumise tulemusel kujuneb L-morf. Nende uuringu tulemused viitavad, et CYP734A50 esindab G-lookust nurmenuku heterostüülia supergeenis, mille avaldumine S-morfis põhjustab brassinosteroidide degradeerumist, mistõttu raku laienemine ja emakakaela pikenemine on piiratud (Huu *et al.*, 2016).

## **2.2. Alade valik**

Käesolev uurimistöö viidi läbi Euroopa Liidu LIFE + Nature projekti „Elu alvaritele“ raames taastatavatel loopealsetel. Loopealsed ehk alvarid on õhukese mullakihiiga viljakad lubjarikkad poollooduslikud rohumaad. Kunagised laialtlevinud poollooduslikud kooslused hakkasid kahanema alates 20. sajandist, mil põllumajandus intensiivistus ning traditsioonilistest majandamisviisidest hakati loobuma (Luoto *et al.*, 2003). Maailma mastaabis on loopealsed väga haruldased ning umbes kolmandik kogu maailma loopealsetest asub Eestis, mistõttu on meil suur vastutus nende säilimise tagamisel. Lisaks haruldusele on loopealsed ka erakordselt liigirikkad. Loopealsed paiknevad Eestis peamiselt Lääne-Eesti rannikualadel ning saartel, mistõttu ka käesoleva projekti alad asuvad Pärnu ja Lääne maakonnas ning Saaremaal, Hiiumaal ja Muhumaal (Joonis 4). Taastamisprojekti käigus taastatakse vahemikus 2014-2019 2500 hektaril loopealseid ning tagatakse ka alade edaspidiseks säilimiseks vajalikud tingimused karjatamise soodustamise näol (Keskkonnaministeerium).



Joonis 4. Ajaloolised (Laasimer, 1965) ja tänapäevased loopealsete levikualad ning LIFE projektialad. Heterostüüliat kirjeldati nendel projektialadel, kus nurmenukke leidis.

Projektialadel viidi läbi põhjalik elurikkuse uuring tuvastamaks, kas ja kuidas taastamine elurikkust parandab. Sealhulgas koguti proove ka tavalisemate niiduliikide populatsioonide geneetilise mitmekesisuse hindamiseks. Hindamaks loopealsete kinnikasvamisel toimuva suksessiooni mõju elurikkusele, kaardistati elurikkuse seisund järgnevaid suksessiooniastmeid esindavates kooslustes: (1) veel avatud loopealsetel, (2) märkimisväärselt kinnikasvanud (peamiselt kadastikuga kaetud) loopealsetel, kus veel vähesel määral oli loopealsete iseloomulik liigifond säilinud ja (3) metsastunud loopealsetel, kust kunagine avatud loopealsete iseloomulik liigifond kas täielikult või peaaegu täielikult hävinenud oli. Andmeid koguti ka loopealsete kaasaegse ning ajaloolise pindala ja sidususe kohta, mis võimaldab uurida alade maastikulisi muutusi ajas. Kõik uurimisalad on kaotanud märkimisväärse osa oma ajaloolisest pindalast (Reinula, 2018).



Elurikkuse geneetilise komponendi uuringuid alustati hariliku nurmenuku geneetilise analüüsiga, kuna tõenäoliselt on putukate abil risttolmlevad pikaealised liigid, mida nurmenukk tunnuste poolest hästi esindab, kõige enam kasvukohtade killustumise poolt negatiivselt mõjutatud (Aguilar *et al.*, 2008; Estrada *et al.*, 2017). Kuna nurmenuku kui heterostüülse liigi geneetilist mitmekesisust võib mõjutada ka S- ja L-morfide osakaal populatsioonis (Meeus *et al.*, 2012), mida omakorda võib mõjutada kasvukohtade killustumine, hinnati projektialadel ka nurmenuku heterostüüliat.

### **2.3. Välitööd**

Välitööd hariliku nurmenuku S- ja L-morfide tasakaalu kirjeldavate andmete kogumiseks viidi läbi 2017. aasta mai lõpus ja juuni alguses, mil nurmenukk Eestis õitseb. Seirealaid on LIFE-projektil 35, millest heterostüülia kaardistati kokku 26-lt. Populatsioonide heterostüülia kaardistamisel võeti arvesse eri suksessiooniastmeid nagu avatud maastik, kadastik ja metsaala. Seirealadele lisaks kaasati uurimusse ka kontrollalad, mille puhul on tegu avatud loopealsetega, kus taastamist ja karjatamist ei toimu, aga nurmenukke leidis. Kokku kaardistati heterostüülia 59-s populatsioonis, millest avatud olid 17 kasvukohta, metsaalasid oli 8, kadastikke 19 ning kontrollalaid 15.

Andmete kogumisel seati eesmärgiks igast populatsioonist koguda andmeid sajalt isendilt, kuid kõikidel uurimisaladel polnud see tulenevalt populatsiooni väiksusest võimalik. Heterostüülia hindamiseks vaadati, kas isend on L-morf või S-morf (Joonis 5). Kuna varasemates uuringutes (Boyd *et al.*, 1990) on leitud, et enamasti on iga taime lähim naaber samast morfist, mida võib seletada asjaoluga, et tegu on samast kloonist pärit isenditega, jäeti ka antud töös vaadeldavate isendite vahele vähemalt 50 sentimeetrine vahemaa vältimaks suguluses olevate taimede uurimist. Kahju tekitamise vältimiseks taimi üles ei korjatud, tegu oli enamasti vaatlusega. Ligikaudu hinnati igas populatsioonis isendite arvukust ning tihedust skaalal 1-3 (1-hõre; 2-keskmise; 3-tihe).



(a)



(b)

Joonis 5. S- ja L-morfi määramine. Vasakpoolsel fotol (a) on L-morf, kuna visuaalsel vaatlusel on näha kõrgem emakakael. Parempoolsel fotol (b) on S-morf, mille puhul paiknevad tolmukad emakast kõrgemal (foto: T. Aavik).

#### **2.4. Geneetilised uuringud**

Tuvastamaks S- ja L-morfide tasakaalust hälbumise võimalikku mõju hariliku nurmenuku geneetilisele mitmekesisusele, kasutati käesolevas töös uurimisprojekti „Taimede geneetilise mitmekesisuse seos maastiku ajalis-ruumiliste muutustega“ ning Iris Reinula magistritöö raames kogutud andmeid nurmenuku populatsioonide geneetilise mitmekesisuse kohta (Reinula, 2018). Käesolevas töös kasutati heterostüülia ja geneetilise mitmekesisuse vahelise seose hindamiseks 30 Saaremaa ja Muhumaa nurmenuku populatsiooni geneetilisi andmeid. Kui võimalik, koguti igast populatsioonist geneetiliseks analüüsiks 1-3 lehte 20-lt nurmenuku isendilt. Mõned populatsioonid olid aga väiksemad, mistõttu polnud igas populatsioonis võimalik proove 20-lt isendilt koguda. Kokku analüüsiti geneetiliselt 564 isendit. Kogutud proovidelt eraldati DNA, järgmiseks valmistati ette raamatukogu DNA sekveneerimiseks ddRAD meetodiga (Andrews *et al.*, 2016) ning seejärel DNA sekveneeriti (geneetilisest analüüsist täpsema ülevaate saamiseks vt. Reinula, 2018). Geneetiliste markeritena kasutati ühenukleotiidsid polümorfisme ehk SNP-e (*single nucleotide polymorphisms*), mida oli kokku ligi 4600. SNP-de põhjal arvutati järgnevad populatsioonide geneetilise mitmekesisuse indeksid: oodatav heterosügootsus (*expected heterozygosity*  $H_e$ ), vaadeldud heterosügootsus (*observed heterozygosity*  $H_o$ ) ning lähiristumiskoeffitsient  $F_{is}$ .

## 2.5. Andmeanalüüs

Andmeanalüüsi teostamiseks kasutati R tarkvarapaketi versiooni 3.4.4 (R Development Core Team, 2008). Peamiseks uuritavaks tunnuseks antud töös oli morfide tasakaalu (50% S-morfe ja 50% L-morfe) hälbimine kahanenud pindalaga loopealsetel. Morfide kõrvalekallet tasakaalust arutati lahutades S-morfide arvust L-morfide arv, saadud väärtus jagati S- ja L-morfide summaga ning tulemusest võeti absoluutväärtus. Lõpptulemusel esitatakse kõrvalekallet 0-st (S- ja L-morfe on sama palju) 1-ni (kõik vaadeldud isendid on kas S- või L-morfid) ning seda tunnust kasutati järgnevates statistilistes analüüsidest sõltuva muutujana.

Loopealsete killustumise indikaatoritena kasutati erinevaid tunnuseid: ala suurus, uuritud populatsiooni suurus ja kasvukohtade suksessiooniaste (avatud, kadastik, mets), kuna alade kinnikasvamine karjatamise lakkamisel on üks peamisi loopealsete killustumist põhjustavaid tegureid. Kuna nurmenuku populatsioonide suurusid varieerusid neljast isendist viie tuhandeni, polnud see tunnus normaaljaotusega ning tunnuse väärtused logaritmiti. Sama meetodikat kasutati ka alade suuruste puhul, mis varieerusid 0,089 hektarist 71,3 hektarini. Kasvukohad jagati suksessiooniastme järgi kinnikasvanuks ja avatuks. Kinnikasvanud loopealsete alla koondati metsastunud loopealsed ja kadastikud. Avatud ja kontrollalad võeti kokku avatud kasvukohtade alla. Erinevad killustumist kirjeldavad tunnused (ala ja populatsiooni suurus ning suksessiooniaste) polnud omavahel korreleeritud. Kuna tööle eelnenud maastikuanalüüs näitas, et Muhu ning Saaremaa alad on nii ajaloolise kui ka kaasaegse maastiku poolest erinevad (Muhu loopealsed on nii minevikus kui ka kaasajal olnud suuremad ning sidusamad; Reinula, 2018), kaasati geneetilise mitmekesisuse ja morfide tasakaalust hälbimise vahelist seost hindavasse analüüsi eraldi tunnuseks ka piirkond (Muhumaa ja Saaremaa).

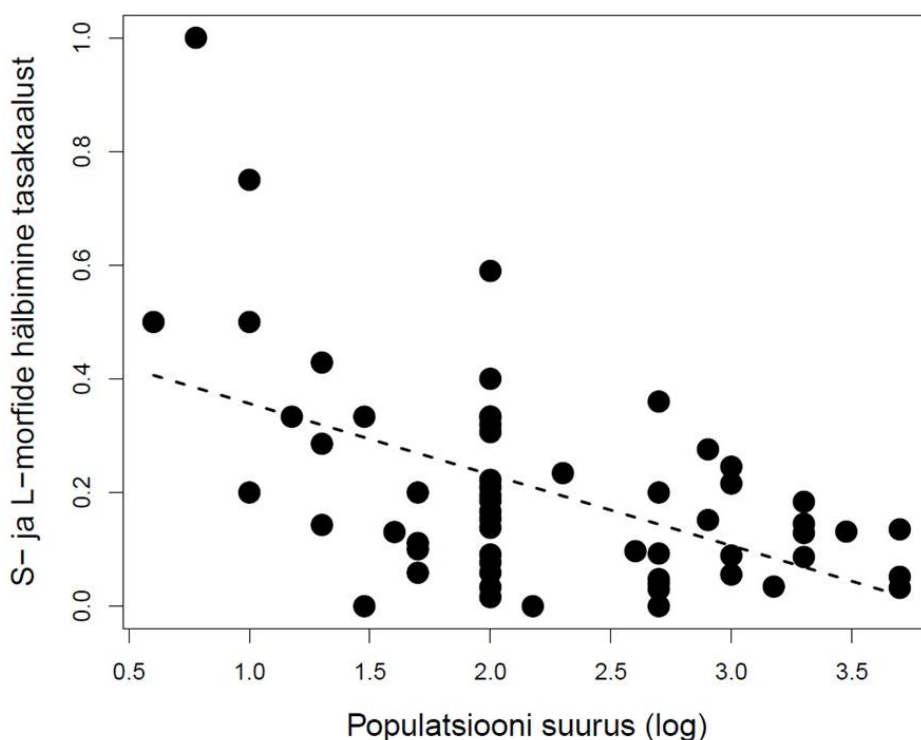
Hindamiseks suksessiooniastme mõju morfide kõrvalekaldele suhtest 50:50, kasutati dispersioonanalüüsi ehk ANOVA-tüüpi analüüsi (*Analysis of Variance*). Pidevate tunnuste mõju (ala suurus ja populatsiooni suurus) hindamiseks kasutati regressioonanalüüsi. Et analüüsida, kas väiksemates populatsioonides saavad eelise L-morfid, jagati populatsioonid, kus tasakaal erines suhtes 50:50, kaheks: (1) populatsioonid, kus on ülekaalus L-morfid ning (2) populatsioonid, kus on ülekaalus S-morfid. Võrreldi, kas nende kahe grupi siseselt on vastus populatsiooni suuruse muutustele erinev. Selleks

kasutati üldist lineaarset mudelit. Üldist lineaarset mudelit kasutati ka selleks, et hinnata morfide 50:50 tasakaalust kõrvalekalde mõju 30 geneetiliselt analüüsitud populatsiooni geneetilisele mitmekesisusele (vaadeldud ja oodatav heterosügootsus ning lähiristumiskoeffitsient). Lisaks morfide tasakaalust hälbumise tunnusele kaasati nendesse mudelitesse ka piirkonna mõju ning piirkonna ja morfide tasakaalust hälbumise koosmõju.

### 3. Tulemused

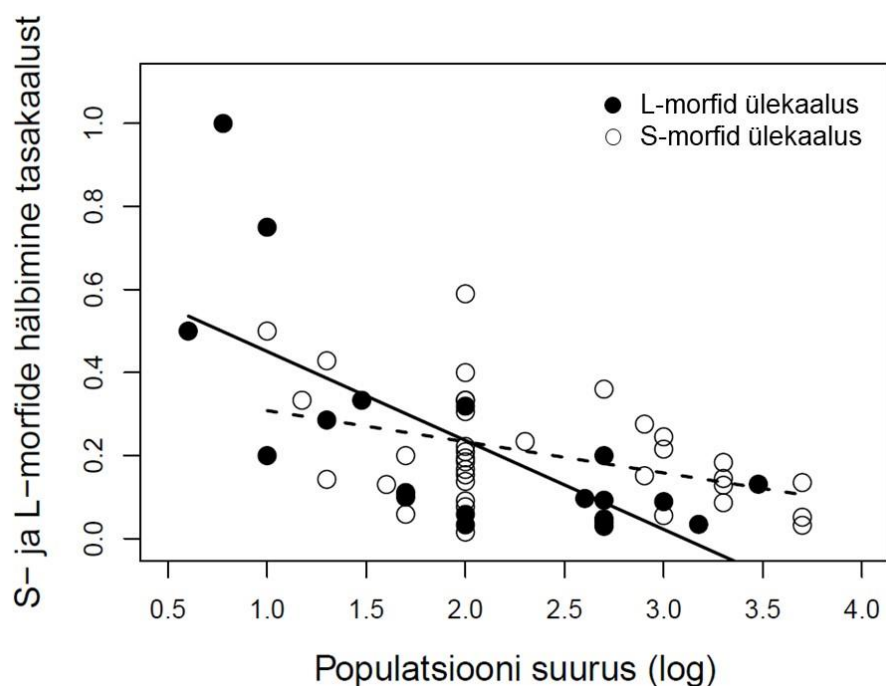
#### 3.1. S- ja L-morfide tasakaalust hälbimist mõjutavad tegurid

ANOVA avatud ja kinnikasvanud kasvukohtades olulist erinevust morfide tasakaalu hälbimises ei tuvastanud ( $F = 1.27$ ; v.a = 1,57;  $P = 0.262$ ). Küll aga leiti, et S- ja L-morfide tasakaal hälbis väiksemates populatsioonides oluliselt rohkem kui suuremates populatsioonides ( $R^2 = 0.257$ ,  $P < 0.001$ ; Joonis 6).



Joonis 6. Hariliku nurmenuku populatsioonide S- ja L-morfide tasakaalust 50:50 hälbimise (varieerub 0-st 1-ni; 0: S- ja L-morfe on võrdselt; 1: populatsioonis leiti vaid S-morfe või vaid L-morfe) seos populatsiooni suurusega.

Kui võrreldi kahte gruppi, kus olid ülekaalus kas S- või L-morfid, ilmnes, et väiksemates populatsioonides esines sagedamini kõrgem L-morfide osakaal ( $F = 7.03$ ; v.a = 1,52;  $P = 0.011$ ; Joonis 7).

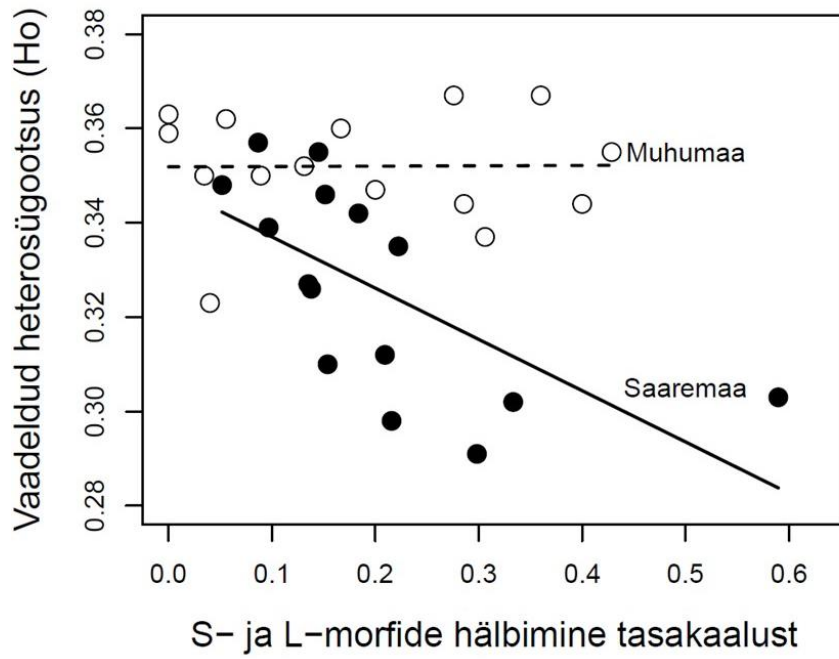


Joonis 7. Hariliku nurmenuku populatsioonide S- ja L-morfide osakaalu seos populatsioonisuurusega. Joonisel (ja analüüsis) on eristatud populatsioonid, kus domineerivad kas L-morfid (mustad ringid) või S-morfid (seest tühjad ringid). Jooniselt kui analüüsist arvati välja need populatsioonid, kus S-ja L-morfe esines võrdselt.

Uuritud kasvukohafragmendid olid oma suuruselt väga varieeruvad (0,089 - 71,3 ha), mis omakorda andis võimaluse uurida morfide tasakaalu sõltuvust ala suuruselt. Andmeanalüüsi tulemusena statistiliselt olulist seost ala suuruse ning morfide tasakaalu hälbimise vahel ei tuvastatud.

### 3.2. S- ja L-morfide tasakaalust hälbimise mõju geneetilisele mitmekesisusele

S- ja L-morfide tasakaalust hälbimine tõi kaasa muutusi ka populatsioonide geneetilises mitmekesisuses ( $F = 6.7$ ; v.a = 1,26;  $P = 0.016$ ). Samas leiti, et seos sõltub oluliselt vaadeldavast regioonist: erinevalt Muhumaa populatsioonidest, kus hälbimine morfoloogiliselt erinevate isendite tasakaalust geneetilist mitmekesisust ei mõjutanud, leiti Saaremaa uurimispopulatsioonide geneetilise mitmekesisuse (vaadeldud heterosügootsus) ja morfide tasakaalu vahel oluline seos ( $F = 7.14$ ; v.a = 1,26;  $P = 0.013$ ; Joonis 8). Teiste geneetilise mitmekesisuse indeksite (lähiristumiskoeffitsient ning eeldatav heterosügootsus) ja tasakaalu hälbimise vahel statistiliselt olulisi seoseid ei leitud.



Joonis 8. Hariliku nurmenuku populatsioonide S- ja L-morfide tasakaalust hälbimise seos vaadeldud heterosügootsusega ( $H_o$ ) Saaremaal (mustad ringid) ja Muhumaal (seest tühjad ringid).

## 4. Arutelu

Kasvukohtade killustumine ja kadumine on tänapäeval peamisteks bioloogilise mitmekesisuse vähenemist põhjustavateks teguriteks (Haddad *et al.*, 2015). Elurikkuse hindamise aluseks ei saa aga võtta vaid liigirikkust, kuna bioloogiline mitmekesisus sisaldab ka muid komponente, sealhulgas geneetilist ja maastikulist mitmekesisust. Kasvukohtade fragmenteerumise tulemusena toimuvad elurikkuse muutused hõlmavad endas ka võimalikke evolutsioonilisi tagajärgi ning looduse toimimise mõistmiseks tuleb nendele muutustele seletust otsida kõiki tasandeid uurides. Oluline on mõista ka populatsioonis toimuvaid väiksemaid ja silmaga mitte nii nähtavaid muutusi, kuna just need protsessid võivad mõjutada populatsiooni elujõulisust, terve liigi säilimist või ka ökosüsteemide toimimist. Käesolev töö keskendub killustunud kasvukohtades paiknevate hariliku nurmenuku populatsioonide erikaelsuse ehk heterostüülia ning killustumise vaheliste seoste uurimisele. Samuti seati eesmärgiks hinnata, kas killustumise tagajärjel asetleidvad muutused erinevate morvide osakaalus toovad kaasa ka muutusi uuritud populatsioonide geneetilise mitmekesisuse jaoks.

### 4.1. Kasvukohtade killustumise mõju nurmenuku S- ja L-morfide osakaalule

Kasvukohtade killustumine mõjutab elurikkust mitmete mehhanismide kaudu. Muuhulgas kaasneb kasvukohtade pindala kahanemisega ka seal kasvavate taimeliikide populatsiooni suuruse märkimisväärne kahanemine (Kiviniemi, 2008). Väikesed populatsioonid on aga oluliselt tundlikumad keskkonnahäiringute ning geenitriivi suhtes. Seetõttu on populatsioonide suurust kasutatud paljudes kasvukohtade killustumise mõju uurivates teadustöodes ühe sagedasema killustumise indikaatorina (Leimu *et al.*, 2006). Mitmetes varasemates uuringutes (Endels *et al.*, 2002; Jacquemyn *et al.*, 2002; Kery *et al.*, 2003) on leidnud kinnitust asjaolu, et juhuslikud protsessid põhjustavad distüülsete liikide morvide tavapärase osakaalu (50:50) hälvimist eeskätt just väikestes populatsioonides. Nurmenuku populatsioonide suuruse mõju morvide osakaalule uuriti ka käesolevas töös. Töö alguses püstitatud hüpotees (kasvukohtade killustumine põhjustab morvide tasakaalu hälvimist eelkõige väiksemates populatsioonides) sai kinnitust. Väiksemates nurmenuku populatsioonides hälbis S- ja L-morfide tasakaal oluliselt rohkem kui suuremates populatsioonides.



Üks olulisi põhjuseid, miks morfade tasakaal väiksemates populatsioonides paigast nihkub võib seisneda asjaolus, et väiksemad populatsioonid on enam mõjutatud juhuslikest protsessidest (sealhulgas näiteks ka geenitriiv) ja lähirstumisest, kui seda on suured populatsioonid (Young *et al.*, 1996). Kery jt. (2003) poolt läbiviidud uuringust ilmnes, et morfade 50:50 tasakaal kaldus rohkem kõrvale väikestes populatsioonides ning 6 kõige väiksemat populatsiooni uuritavast 76-st oli ühe morfi tervenisti kaotanud. Ka ühes Saaremaal uuritud väikeses populatsioonis esines vaid üks morfi tüüp – L-morf. Nii käesoleva töö kui ka mitmete varasemate uuringute tulemused viitavad demograafilise juhuslikkuse olulisusele väikestes populatsioonides, mis tuleneb juhuslikust isendite kadumisest populatsiooni killustumise tagajärjel. Kohasuse langus, lähirstumissurutus, arvukuse kõikumine ja teised tegurid koosmõjul võivad omakorda veelgi populatsioonisuurust kahandada, väljendudes väljasuremiskeerisena (Gilpin & Soulé, 1986). Kui väikestes nurmenuku populatsioonides on morfade tasakaal paigast ära, võib see oluliselt mõjutada populatsioonide pikaajalist püsijäämist (Endels *et al.*, 2002) ning kuigi harilik nurmenukk on üpriski tavaline liik, vähendab killustumine ka tema väikestes populatsioonides geneetilist mitmekesisust (Van Rossum *et al.*, 2004), mistõttu peaks looduskaitse kavandamises ka tavalisemate liikidega arvestama.

Teise kasvukoha killustumise tegurina uuriti kasvukohtade pindala mõju morfade tasakaalule. Analüüsis olulist seost morfade osakaalu ja kasvukoha pindala vahel ei ilmnenud. Piessens jt. (2005) poolt läbiviidud uuringust selgus, et kasvukoha pindala suurusel on taimede liigirikkusele enamasti ebaoluline mõju, hoopis olulisemaks aspektiks võib killustumisel olla kasvukohtade sidususe kadumise mõju, mida käesolevas töös ei hinnatud. Analoogiliselt võiks see selgitus kehtida ka morfade tasakaalu kohta. Reeglina on kõik ajalooliselt suurepinnalised loopealsed praeguseks kaotanud märkimisväärse osa oma kunagisest pindalast. Käesolev uurimus viidi läbi suureskaalalise taastamisprojekti „Elu alvaritele“ raames, mille jaoks valiti liigifondi tagamise eesmärgil projektipiirkondadeks sellised alad, kus loopealseid leidus võrreldes teiste piirkondadega rohkem. Seega võib loopealsete parem sidusus mõningal määral kompenseerida pindala kahanemist, nii et nendel aladel kasvavad populatsioonid võivad endiselt olla elujõulised ning morfade tasakaal olla stabiilne.

Ühe killustumise komponendina uuriti antud töös kasvukohatingimuste mõju morfide tasakaalule. Morfide osakaal avatud ja kinnikasvanud kasvukohtade ei erinenud. Ka varasemad uuringud nurmenuku populatsioonide kasvukohtade võrdluses (Brys & Jacquemyn, 2015) on leidnud, et kuigi kasvukoht võib mõjutada taime morfoloogiat, eriti reproduktiivsete organite paigutust ja nende vastastikust sobivust, siis S- ja L-morfide osakaalu elupaiga erinevus (avatud, mets) ilmselt otseselt ei mõjuta. Tuvastatud kasvukohaspetsiifilised erinevused õitsemises ja morfoloogias võib omistada eri keskkonningimuste mõjule, näiteks varasem õitsemine metsapopulatsioonidel võrreldes rohumaa omadega on ilmselt seotud madalamate temperatuuride ning väiksema valgushulgaga (Brys & Jacquemyn, 2015). Samas on LIFE alade kinnikasvanud loopealsetel täheldatud tunduvalt väiksemat tolmeldajate arvukust ja liigirikkust võrreldes avatud kasvukohtadega (Prangel, 2017). Sellest võiks eeldada, et tolmeldajate puudumise tõttu võib hakata kinnikasvanud loopealsetel homostüülia välja kujunema. Selliseid tagajärgi antud uurimus siiski veel ei tuvastanud.

#### ***4.2. Nurmenuku L-morfide osalise iseviljastumisvõime mõju L-morfide osakaalule***

Asjaolu, et L-morfid on võimelised iseviljastumiseks (Wedderburn & Richards, 1990), annab L-morfide killustunud kasvukohtades selge evolutsioonilise eelise S-morfi ees, mille isetolmlemisel elujõuliste seemnete tootmine on väga madal (L-morfil iseviljastumise tõenäosus 14,5%, S-morfil 0,6%). Sellele tuginedes püstitati antud töös teiseks hüpoteesiks, et killustunud nurmenuku populatsioonides saavad suurema osakaalu L-morfid. Analüüsis võrreldi selleks populatsioonisuuruse mõju eraldi populatsioonidele, kus olid ülekaalus kas S- või L-morfid. Ilmnes, et vastus populatsiooni suurusele oli erinev - väiksemates populatsioonides oli L-morfide osakaal võrreldes S-morfidega kõrgem, millega sai ka püstitatud hüpotees kinnituse. Samas tuleb märkida, et kuigi seos oli statistiliselt oluline, polnud see erinevus märkimisväärne ning ei saa välistada ka juhuslikkuse rolli antud erinevuste kujunemisel. Kuid kuna nendel erinevustel võivad olla olulised evolutsioonilised tagajärjed, tuleks seda trendi edaspidistes uurimustes põhjalikumalt analüüsida.

Ühe morfi kadumisel populatsioonist ei ole distüülsete liikide suguline paljunemine enam võimalik. Ka olukorras, kus morfide tasakaal on märkimisväärselt paigast nihkunud, on suguline paljunemine oluliselt raskem. Kuid kuna just L-morfil on iseviljastumise näol

eelis S-morfi ees, on ka varasemates uuringutes oletatud, et killustunud kasvukohtades võivad saada ülekaalu L-morfid (Van Rossum & Triest, 2006), kuigi otsest kinnitust sellele hüpoteesile saadud pole. Kui kasvukohad jätkuvalt killustuvad ning vaid ühte morfi sisaldavad või oluliselt tasakaalust hälbiva morfide osakaaluga populatsioonid muutuvad aina tavalisemaks, võib see kaasa tuua olulisi evolutsioonilisi muutusi. Muuhulgas on sellises olukorras eelistatud paljunemisviisiks iseviljastumisvõime ning kлонаalne paljunemine (Cheptou *et al.*, 2017).

Eelpool mainitud muutusi paljunemistunnustes soosivad ka maastike killustumisest tulenevad muutused taim-tolmeldaja interaktsioonides. Kasvukohtade ja elupaikade killustumine ei mõjuta negatiivselt mitte üksnes taimepopulatsioone, vaid halvendab olukorda ka taimi tolmeldavate putukate jaoks, mis omakorda kahandab risttolmlemist (Aizen & Feinsinger, 1994; Honnay *et al.*, 2005). Eriti oluliseks valikuteguriks võib tolmeldajate kadumine kujuneda heterostüülsete liikide puhul, kelle paljunemisedukus sõltub väga oluliselt morfidevahelisest putuktolmlemisest. Killustumise tagajärjel vähenenud tolmeldamine peaks soosima selliseid taimede tunnuseid, mis edendaksid tolmeldamist ka väiksema tolmeldajate kättesaadavuse juures, näiteks atraktiivsemad õied (Cheptou *et al.*, 2017). Kui heterostüülia ei oma enam killustunud maastikus eelist, võib populatsioonis selle asemele kujuneda tolmeldajatest sõltumatum homostüülia (Barmantlo *et al.*, 2017). Tolmeldajatest sõltuvad liigid, kes ei suuda kahanenud geneetilise mitmekesisuse tõttu vähenenud tolmeldamisega kohastuda, võivad kooslustest kiirete maastikumuutuste tõttu üldsegi kaduda (Biesmeijer *et al.*, 2006).

#### ***4.3. S- ja L-morfide tasakaalust hälbimise seos populatsioonide geneetilise mitmekesisusega***

Kasutades käesoleva uurimistööga paralleelselt läbiviidava nurmenuku populatsioonide geneetilise mitmekesisuse uuringust pärinevaid geneetilisi andmeid (Reinula, 2018), analüüsiti morfide tasakaalu hälbimise seost geneetilise mitmekesisusega. Varasemates uurimustes on leitud seoseid geneetilise mitmekesisuse ja morfide tasakaalu vahel (Van Rossum & Triest, 2006; Meeus *et al.*, 2012). Ühe võimaliku selgitusena võib tuua asjaolu, et morfide tasakaal ja populatsioonisuurus on enamasti üksteisega vastavuses ning suurema morfide tasakaalust hälbimisega populatsioonid on madalama geneetilise mitmekesisusega väiksema populatsioonisuuruse tõttu (Leimu *et al.*, 2006; Aguilar *et al.*, 2008). Samas on

heterostüülsete liikide populatsioonide geneetilist mitmekesisust mõjutavaid tegureid uurides leitud, et populatsioonisuurusest palju olulisem on just morfide tasakaal – mida enam tasakaal hälbib, seda madalam vastavalt geneetiline mitmekesisus (Meeus *et al.*, 2012). Seda seetõttu, et paigast nihkunud morfide tasakaal toob kaasa madalama sobivate partnerite arvu, mis omakorda kahandab geneetilise materjali efektiivset vahetamist. Seetõttu otsustati seda seost ka antud töös kontrollida. Kinnitust leidis ka kolmas püstitatud hüpotees: morfide tasakaalu hälbimisega kaasnes populatsioonides madalam geneetiline mitmekesisus, kuid oluline oli ka piikonna mõju. Statistiliselt oluline oli see seos vaid uuritud Saaremaa populatsioonides, Muhumaa populatsioonides oluline seos puudus.

Miks ilmnes Saaremaa ja Muhumaa populatsioonides niivõrd erinev tulemus, kuigi keskkonnatingimused nendes kasvukohtades on sarnased? Üks võimalikke põhjuseid peitub erinevas maastikumuutuste dünaamikas. Eeldatavalt on killustumise tagajärjed tugevamalt avaldunud sellistes taimepopulatsioonides, mis on juba mitme põlvkonna vältel kogunud fragmenteerumise negatiivset mõju (Aguilar *et al.*, 2008). Tõenäoliselt on Saaremaa populatsioonid olnud viimase sajandi jooksul asetleidnud maastikumuutuste poolt tugevamalt mõjutatud. Saaremaa loopealseid iseloomustab kaasajal mõnevõrra väiksem pindala ja madalam sidusus (Reinula, 2018). Samas on Muhumaa loopealsete seisund olnud mõnevõrra stabiilsem - kuigi ka Muhus on toimunud killustumine ning kasvukohtade kadumine, on Saaremaaga võrreldes Muhumaa maastik sidusam ning populatsioonid on seega olnud nii hilisemas minevikus kui kaasajal geenivoolu teel paremini ühendatud. Kui killustunud kasvukohad on muutunud liiga isoleerituks, jääb väikestes populatsioonides geenitriivi tõttu kaotatud alleelide täiendamiseks geenivool ebapiisavaks (Honnay & Jacquemyn, 2007) ning kuna Saaremaa populatsioonid on pikemalt olnud taolistes tingimustes, võibki eeldada, et just seetõttu ilmnes ka siin uuringus seos morfide tasakaalust hälbimise ja geneetilise mitmekesisuse vahel vaid Saaremaal.

Samas ei saa välistada, et Muhu populatsioonides vaadeldud geneetiline mitmekesisus morfide tasakaalu muutuste tõttu lähitulevikus kahanema ei hakkaks. On leitud, et praegune liigirikkus fragmenteerunud loopealsetel ei ole mitte seotud tänapäevaste alade ja nende omavahelise sidususega, vaid esindab hoopiski seost nende alade ajalooliste pindalade ja sidususega (Helm *et al.*, 2006). Sama nähtus võib esineda ka geneetilise mitmekesisuse puhul, kuna peale maastikumuutusi ja -häiringuid võtab uude tasakaalu jõudmine aega ning geneetiline struktuur võib hoopiski selgemini esineda ajaloolist

maastiku struktuuri (Epps & Keyghobadi, 2015). Seos populatsioonisuuruse ja morfiide tasakaalu hälbimise vahel oli oluline ka Muhus, kuid kuna maastikumuutustest hoolimata on Muhu loopealsed veel suuremad ja sidusamad aidates puhverdada maastikumuutuste negatiivset mõju, siis võib sellega seoses mõju geneetilisele mitmekesisusele avalduda alles mõne nürmenuku generatsiooni möödudes.

#### **4.4. Järeldused**

Käesoleva töö tulemusena ilmnis kasvukohtade killustumise oluline negatiivne mõju heterostüülsete taimepopulatsioonidele erikaelsusele, mis pikemas perspektiivis võib mõjutada ka nende populatsioonide elujõulisust. Kuna populatsiooni säilimisel mängib olulist rolli populatsioonide suurus ja nende omavaheline sidusus (Endels *et al.*, 2002; Piessens *et al.*, 2005; Leimu *et al.*, 2006), tuleb kaitse korraldamisel silmas pidada, et populatsioonid ei jääks liiga väikesteks ja isoleerituteks. Ehituste, teede ja teiste projektide kavandamisel tuleks vältida ühtsete populatsioonide eraldamist või selle võimalikkuse puudumisel tuleks tagada populatsioonide vahel sidusus näiteks ökoloogiliste koridoride kaudu. Looduskaitse korraldamisel ei saa arvestada vaid haruldaste liikidega, kuna ka tavalisemad liigid on tundlikud killustumisele ning nende geneetilise mitmekesisuse vähenemisest põhjustatud kohasuse langus fragmenteerunud kasvukohtades võib ka tavalisemad liigid hoopiski haruldasteks muuta (Van Rossum *et al.*, 2004; Honnay & Jacquemyn, 2007).

Fragmenteerumise tagajärjed putuktolmlevate taimeliikide populatsioonidele võivad ilmnedatolmeldajate interaktsioonide kaudu, mis omakorda võib mõjutada bioloogilist mitmekesisust eri tasanditel (Jacquemyn *et al.*, 2012). Seetõttu tuleks edaspidi kasvukohtade killustumist käsitlevates uuringutes veel enam arvesse võtta tolmeldajaid kui olulist taimede elurikkust mõjutavat komponenti ning uurida nende käitumist ja kohanemist killustunud tingimustega. Samuti on killustumisel taimedele avalduva valikusurve evolutsioonilised tagajärjed veel võrdlemisi uurimata ning selgete tõendite osakaal on väike, mistõttu ei saa teha kindlaid järeldusi, kas teatud muutused paljunemisega seotud taimeomadustes on just vastuseks killustumise tagajärjel muutunud keskkonnatingimustele. Kuigi antud töös ilmnis väikestes populatsioonides L-morfiide ülekaal, ei saa me kindlalt öelda, kas seda on põhjustanud killustumine või on tegu juhusliku mustri. Kuna ühe morfi selge eelis võib kaasa tuua olulisi evolutsioonilisi

muutusi, tuleb läbi viia täiendavaid uuringuid kasvukohtade killustumise tagajärgedest reproduktiivsete taimeomaduste muutustele. Kuna kasvukohtade killustumise tagajärjed võivad ilmned teatava viivitusega (Helm *et al.*, 2006; Epps & Keyghobadi, 2015), on kasvukohtade fragmenteerumise eksperimentidesse oluline kaasata ka pikaajalisemaid uuringuid. Seire kindlustamine mitmeteks aastateks aitaks tagada ülevaatlikuma ja veelgi täpsema arusaama kasvukohtade killustumise tagajärgedest kõigil elurikkuse tasanditel.

## Kokkuvõte

Kasvukohtade killustumine on üks peamisi elurikkuse kadumist põhjustavaid tegureid. Killustumise tagajärjel muutunud keskkonnatingimused mõjutavad bioloogilise mitmekesisuse kõiki komponente. Muutused elurikkuses hõlmavad endas ka võimalikke evolutsioonilisi tagajärgi, mis putuktolmlevate taimeliikide populatsioonides võivad olla põhjustatud eelkõige maastike killustumise tõttu asetleidnud taim-tolmeldaja interaktsioonide muutustes. Putuktolmleavad liigid peavad kohastuma vähenenud tolmeldajate kättesaadavusega ning killustunud tingimustes võivad olla eelistatud sellised taimetunnused, mis tagavad iseviljastumise. Heterostüülse hariliku nurmenuku jaoks võib see tähendada homostüülia väljakujunemist, kuna killustunud kasvukohtades ei sõltu homostüülised liigid enam edukaks paljunemiseks tolmeldajatest.

Mõistmaks killustumisest põhjustatud muutusi populatsioonides, uuriti antud töös killustunud hariliku nurmenuku populatsioonide erikaelsuse ning kasvukohtade killustumise vahelisi seoseid Lääne-Eesti loopealsetel. Leiti, et peamine risttolmlemist tagavate morfoloogiliselt erinevate isendite (morfide) tasakaalu mõjutav killustumise aspekt oli populatsioonisuuruse kahanemine: väiksemates hariliku nurmenuku populatsioonides hälbis S- ja L-morfide tasakaal oluliselt rohkem kui suuremates populatsioonides. Sealjuures ilmnes väiksemates populatsioonides suurem L-morfide osakaal. Saaremaa populatsioonides kaasnes morfide tasakaalust hälbimisega ka geneetilise mitmekesisuse langus.

Edukaks looduskaitse korraldamiseks tuleb arvestada populatsioonide suuruse ja omavahelise sidususe olulisust, kuna väikestes ja isoleeritud populatsioonides esineb ka suurem morfide tasakaalust hälbimine, mis omakorda võib kaasa tuua olulisi evolutsioonilisi muutusi ja mõjutada populatsioonide pikaajalist püsijäämist. Ka tavalised liigid nagu harilik nurmenukk võivad killustunud kasvukohtades hakata geneetilist mitmekesisust kaotama, mille tagajärjel võivad ka need liigid tasapisi haruldaseks muutuda. Seega tuleb looduskaitse korraldamisel arvestada ka tavaliste liikidega, kuna fragmenteerumine ei mõjuta vaid haruldasi ja kaitsealuseid liike.

## Summary

Habitat fragmentation is one of the main factors for drastic biodiversity loss. Altered environmental conditions caused by habitat fragmentation affect all biodiversity components. Changes in biodiversity also include potential evolutionary consequences, which for outbreeding plant species may mostly be caused by changes in plant-pollinator interactions in fragmented landscapes. Outbreeding species have to adapt with lower pollinator availability and features that promote selfing may become more favoured in fragmented conditions. For heterostylous *Primula veris* this may mean evolving homostyly, because in fragmented habitats homostylous species will not depend on pollinators anymore.

For understanding the changes caused by fragmentation in plant populations, this research studied the relationships between heterostyly in fragmented *Primula veris* populations and habitat fragmentation on the alvars of western Estonia. The main aspect affecting the proportion of morphologically different individuals (which provides insurance for cross-pollination) was found to be a decrease in population size: the deviation of S- and L-morph balance was higher in small *Primula veris* populations than in large populations. It was also found that smaller populations showed a higher proportion of L-morphs. Lastly, it was confirmed that deviation from the balance of morphs led to lower genetic diversity in *Primula veris* populations of Saaremaa.

Population size and connectivity should be taken into account for successful nature conservation because small and isolated populations show a higher degree of deviation from morph balance, which in turn may lead to significant evolutionary changes and affect the long-term survival of populations through altered genetic diversity. Common species such as *Primula veris* may lose genetic diversity in fragmented habitats, causing them to become more uncommon. Therefore, the threats of fragmentation for common species should also be considered while planning conservation management because fragmentation does not affect only rare and protected species.



## **Tänuavaldused**

Soovin südamest tänada oma juhendajat Tsipe Aavikut, kelle head nõuanded, kommentaarid ja toetav suhtumine olid töö valmimisel väga suureks abiks.

## Kasutatud kirjandus

- Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias-Diego, Y. & Lobo, J. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: Susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology* 17: 5177–5188.
- Aizen, M.A. & Feinsinger, P. 1994. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a chaco dry forest, Argentina. *Ecology* 75: 330–351.
- Andrews, K., Good, J., R Miller, M., Luikart, G. & A Hohenlohe, P. 2016. Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics.
- Barmantlo, S.H., Meirmans, P.G., Luijten, S.H., Triest, L. & Oostermeijer, J.G.B. 2017. Outbreeding depression and breeding system evolution in small, remnant populations of *Primula vulgaris*: consequences for genetic rescue. *Conservation Genetics* 1–10. Springer Netherlands.
- Barrett, S.C.H. 2002. Barrett SCH. The evolution of plant sexual diversity. *Nature reviews. Genetics* 3: 274–284.
- Barrett, S.C.H. 1992. Heterostylous genetic polymorphisms - Model systems for evolutionary analysis. In: *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin.
- Barrett, S.C.H. & Shore, J.S. 1987. Variation and Evolution of Breeding Systems in the *Turnera ulmifolia* L. Complex (*Turneraceae*). *Evolution* 41: 340.
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., *et al.* 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313: 351–354.
- Boyd, M., Silvertown, J. & Tucker, C. 1990. Population Ecology of Heterostyle and Homostyle *Primula Vulgaris* : Growth, Survival and Reproduction in Field. Published by : British Ecological Society. *Journal of Ecology* 78: 799–813.
- Brys, R. & Jacquemyn, H. 2009. Biological Flora of the British Isles: *Primula veris* L. *Journal of Ecology* 97: 581–600.
- Brys, R. & Jacquemyn, H. 2015. Disruption of the distylous syndrome in *Primula veris*. *Annals of Botany* 115: 27–39.
- Brys, R. & Jacquemyn, H. 2012. Effects of human-mediated pollinator impoverishment on floral traits and mating patterns in a short-lived herb: An experimental approach. *Functional Ecology* 26: 189–197.

- Charlesworth, B. & Charlesworth, D. 1979. The Maintenance and Breakdown of Distyly. *The American Naturalist* 114: 499–513.
- Cheptou, P.-O., Carrue, O., Rouifed, S. & Cantarel, A. 2008. Rapid evolution of seed dispersal in an urban environment in the weed *Crepis sancta*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 3796–3799.
- Cheptou, P.-O., Hargreaves, A.L., Bonte, D. & Jacquemyn, H. 2017. Adaptation to fragmentation: evolutionary dynamics driven by human influences. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372: 20160037.
- Crosby, J.L. 1940. High proportions of homostyle plants in populations of *Primula vulgaris*. *Nature* 145: 672–673.
- Darwin, C.R. 1877. The different forms of flowers and plants of the same species. John Murray, London.
- Didham, R.K. 2010. Ecological Consequences of Habitat Fragmentation. *Encyclopedia of Life Sciences* 61: 1–39.
- Endels, P., Jacquemyn, H., Brys, R. & Hermy, M. 2002. Changes in pin-thrum ratios in populations of the heterostyle *Primula vulgaris* Huds.: does imbalance affect population persistence? *Flora* 197: 326–331.
- Epps, C.W. & Keyghobadi, N. 2015. Landscape genetics in a changing world: Disentangling historical and contemporary influences and inferring change. *Molecular Ecology* 24: 6021–6040.
- Estrada, A., Morales-Castilla, I., Meireles, C., Caplat, P. & Early, R. 2017. Equipped to cope with climate change: Traits associated with range filling across European taxa. *Ecography* 41: 770–781.
- Ewers, R.M. & Didham, R.K. 2006. Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 81: 117–142.
- Ganders, F.R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607–635.
- Gilpin, M.E. & Soulé, M.E. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinction. In *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*. Sunderland, MA: Sinauer.
- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., *et al.* 2015. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances* 1: e1500052

- Haddadchi, A., Fatemi, M. & Gross, C.L. 2014. Clonal growth is enhanced in the absence of a mating morph: A comparative study of fertile stylar polymorphic and sterile monomorphic populations of *Nymphoides montana* (Menyanthaceae). *Annals of Botany* 113: 523–532.
- Harder, L.D. & Aizen, M.A. 2010. Floral adaptation and diversification under pollen limitation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365: 529–543.
- Heinaru, A., 2012. Geneetika. Õpik kõrgkoolile. Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu.
- Heino, M. & Hanski, I. 2001. Evolution of Migration Rate in a Spatially Realistic Metapopulation Model. *The American Naturalist* 157: 495–511.
- Helm, A., Hanski, I. & Pärtel, M. 2006. Slow response of plant species richness to habitat loss and fragmentation. *Ecology Letters* 9: 72–77.
- Honnay, O. & Jacquemyn, H. 2007. Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. *Conservation Biology* 21: 823–831.
- Honnay, O., Jacquemyn, H., Bossuyrt, B. & Hermy, M. 2005. Forest fragmentation effects on patch occupancy and population viability of herbaceous plant species. *New Phytologist* 166: 723–736.
- Huu, C.N., Kappel, C., Keller, B., Sicard, A., Takebayashi, Y., Breuninger, H., *et al.* 2016. Presence versus absence of CYP734A50 underlies the style-length dimorphism in primroses. *eLife* 5: 1–15.
- IPBES. 2018. Summary for policymakers of the regional assessment report on biodiversity and ecosystem services for Europe and Central Asia of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. M. Fischer, M. Rounsevell, A. Torre-Mari. Bonn, Germany.
- Jacquemyn, H., Brys, R. & Hermy, M. 2002. Patch occupancy, population size and reproductive success of a forest herb (*Primula elatior*) in a fragmented landscape. *Oecologia* 130: 617–625.
- Jacquemyn, H., de Meester, L., Jongejans, E. & Honnay, O. 2012. Evolutionary changes in plant reproductive traits following habitat fragmentation and their consequences for population fitness. *Journal of Ecology* 100: 76–87.
- Keller, B., Thomson, J.D. & Conti, E. 2014. Heterostyly promotes disassortative pollination and reduces sexual interference in Darwin's primroses: Evidence from experimental studies. *Functional Ecology* 28: 1413–1425.
- Kery, M., Matthies, D. & Schmid, B. 2003. Demographic stochasticity in population

- fragments of the declining distylous perennial *Primula veris* (*Primulaceae*). *Basic and Applied Ecology* 206: 197–206.
- Kiviniemi, K. 2008. Effects of fragment size and isolation on the occurrence of four short-lived plants in semi-natural grasslands. *Acta Oecologica* 33: 56–65.
- Laasimer, R. 1965. Eesti NSV Taimkate. Valgus, Tallinn.
- Leimu, R., Mutikainen, P., Koricheva, J. & Fischer, M. 2006. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of Ecology* 94: 942–952.
- Leimu, R., Vergeer, P., Angeloni, F. & Ouborg, N.J. 2010. Habitat fragmentation, climate change, and inbreeding in plants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1195: 84–98.
- Lewis, D. 1954. Comparative Incompatibility in Angiosperms and Fungi. *Advances in genetics* 6: 235-85
- Luijten, S.H., Oostermeijer, J.G.B., Ellis-Adam, A.C. & den Nijs, J.C.M. 1999. Variable herkogamy and autofertility in marginal populations of *Gentianella germanica* in the Netherlands. *Folia Geobotanica* 34: 483–496.
- Luoto, M., Rekolainen, S., Aakkula, J. & Pykälä, J. 2003. Loss of plant species richness and habitat connectivity in grasslands associated with agricultural change in Finland. *Ambio* 32: 447–452.
- Meeus, S., Honnay, O., Brys, R. & Jacquemyn, H. 2012. Biased morph ratios and skewed mating success contribute to loss of genetic diversity in the distylous *Pulmonaria officinalis*. *Annals of Botany* 109: 227–235.
- Merilä, J. & Crnokrak, P. 2001. Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits. *Journal of Evolutionary Biology* 14: 892–903.
- Mitchell, R.J. 1993. Adaptive Significance of *Ipomopsis Aggregata* Nectar Production : Observation and Experiment in the Field. *Evolution* 47: 25–35.
- Ornduff, R. 1980. Pollen Flow in *Primula veris* (*Primulaceae*). *Plant Systematics and Evolution* 135: 89–93.
- Pereira, H.M., Leadley, P.W., Proença, V., Alkemade, R., Scharlemann, J.P.W., Fernandez-Manjarrés, J.F., *et al.* 2010. Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science* 330: 1496–1501.
- Pharo, E.J. & Zartman, C.E. 2007. Bryophytes in a changing landscape: The hierarchical effects of habitat fragmentation on ecological and evolutionary processes. *Biological Conservation* 135: 315–325.

- Piessens, K., Honnay, O. & Hermy, M. 2005. The role of fragment area and isolation in the conservation of heathland species. *Biological Conservation* 122: 61–69.
- Prangel, E. 2017. Ökosüsteemi hüved avatud ja kinnikasvavatel loopealsetel. Tartu Ülikool, Tartu.
- R Development Core Team. 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reinula, I. 2018. The impact of landscape change on the genetic diversity of the grassland plant *Primula veris*. Tartu University, Tartu.
- Richards, A.J. & Ibrahim, H. 1978. Estimation of neighbourhood size in two populations of *Primula veris*. The Pollination of Flowers by Insects. *Academic Press, London, UK*. 165–174.
- Richards, A.J. & Ibrahim, H. 1982. The Breeding System in *Primula Veris* L. II. Pollen Tube Growth and Seed-Set. *New Phytologist* 90: 305–314.
- Rossetto, M., Gross, C.L., Jones, R. & Hunter, J. 2004. Rossetto M, Gross CL, Jones R, Hunter J.. The impact of clonality on an endangered tree (*Elaeocarpus williamsianus*) in a fragmented rainforest. *Biol Conserv* 117: 33-39.
- Schoener, T.W. 2011. The newest synthesis: Understanding the interplay of evolutionary and ecological dynamics. *Science* 331: 426–429.
- Segal, B., Sapir, Y. & Carmel, Y. 2006. Fragmentation and Pollination Crisis in the Self-Incompatible *Iris Bismarckiana* (Iridaceae), with Implications for Conservation. *Israel journal of ecology and evolution* 52: 431–441.
- Tamm, C.O. 1972. Survival and flowering of perennial herbs III. The behaviour of *Primula veris* on permanent plots CARL. *Nordic Society Oikos* 23: 159–166.
- Valiente-Banuet, A., Aizen, M., Alcántara, J., Arroyo, J., Cocucci, A., Galetti, M., *et al.* 2014. Beyond species loss: The extinction of ecological interactions in a changing world. *Functional Ecology* 29: 299–307.
- Van Rossum, F., Campos De Sousa, S. & Triest, L. 2004. Genetic consequences of habitat fragmentation in an agricultural landscape on the common *Primula veris*, and comparison with its rare congener, *P. vulgaris*. *Conservation Genetics* 5: 231–245.
- Van Rossum, F., De Sousa, S.C. & Triest, L. 2006. Morph-specific differences in reproductive success in the distylous *Primula veris* in a context of habitat fragmentation. *Acta Oecologica* 30: 426–433.
- Van Rossum, F. & Triest, L. 2007. Fine-scale spatial genetic structure of the distylous *Primula veris* in fragmented habitats. *Plant Biology* 9: 374–382.

- Van Rossum, F. & Triest, L. 2006. Within-population genetic variation in the distylous *Primula veris*: Does floral morph anisoplethy matter in fragmented habitats? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 7: 263–273.
- Wedderburn, F. & Richards, A.J. 1990. Variation in within-morph incompatibility inhibition sites in heteromorphic *Primula* L. *New Phytologist* 116: 149–162.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97–159.
- Young, A., Boyle, T. & Brown, T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Elsevier Science Ltd* 5347: 413–418.

## **Internetiallikad**

- Eesti taimede uus levikuatlas. Hariliku nurmenuku levikukaart. Kasutatud 24.03.2018  
[https://otluuk.github.io/atlas/taxon/Primula\\_veris.html](https://otluuk.github.io/atlas/taxon/Primula_veris.html)
- Keskkonnaministeerium. LIFE + Nature projekt - Eesti loopealsete karjamaade taastamine.  
Kasutatud 03.03.2018 <http://life.envir.ee/elualvaritel>

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Marianne Kaldra,

annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„Erikaelsus hariliku nurmenuku (*Primula veris*) killustunud populatsioonides”, mille juhendaja on Tsipe Aavik,

reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace´i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 23.05.2018