

Tartu Ülikool
Loodus- ja täppisteaduste valdkond
Ökoloogia ja Maateaduste Instituut
Botaanika osakond

Vete-Mari Kuningas

**MAASTIKU STRUKTUURI MÕJU HARILIKU NURMENUKU
(*PRIMULA VERIS*) POPULATSIOONIDE GENEETILISELE
MITMEKESISUSELE JA GEENIVOOLULE**

Bakalaureusetöö (12 EAP)
Bioloogia ja elustiku kaitse eriala

Juhendajad: Tsipe Aavik, Iris Reinula

Tartu 2023

Infoleht

Maastiku struktuuri mõju hariliku nurmenuku (*Primula veris*) populatsioonide geneetilisele mitmekesisusele ja geenivoolule

Käesoleva töö eesmärgiks on uurida kasvukohtade killustumise mõju hariliku nurmenuku populatsioonide geneetilisele mitmekesisusele ja saada teada, kuidas mõjutavad erinevad maastikuelemendid hariliku nurmenuku populatsioonide vahelist geenivoolu*. Töö kirjanduslik pool annab ülevaate elupaikade pindala vähenemise ja killustumise mõjust liigilisele ja geneetilisele mitmekesisusele. Töö hõlmab ka uurimuslikku osa, milles analüüsitakse killustunud loopealsetel kasvavate hariliku nurmenuku populatsioonide geneetilist mitmekesisust. Lisaks kasutakse töös maastikugeneetilist meetodit geenivoolu soodustavate või takistavate maastikuelementide leidmiseks.

Märksõnad: geneetiline mitmekesisus, maastikugeneetika, harilik nurmenukk, poollooduslikud kooslused, kasvukohtade killustumine

CERCS teaduseriala kood: B225 Taimegeneetika, B270 Taimeökoloogia

Effects of landscape structure on genetic diversity and gene flow in *Primula veris* populations

The aim of this thesis is to study the effects of fragmentation of habitats on the genetic diversity of populations of *Primula veris* and to find out how different landscape elements affect the gene flow between populations of *Primula veris*. The literature review of the thesis gives an overview about the impact of habitat area reduction and fragmentation on species and genetic diversity. The thesis also includes a research part, in which the genetic diversity of the populations of the *Primula veris* growing on seminatural grasslands is analysed. In addition, the thesis uses a landscape genetic method to identify landscape elements that increase or decrease gene flow between populations.

Keywords: genetic diversity, landscape genetics, *Primula veris*, semi-natural grasslands, habitat fragmentation

CERCS research field code: B225 Plant genetics, B270 Plant ecology

Sisukord

Infoleht.....	2
1. Sissejuhatus.....	4
1.1. Geneetiline mitmekesisus.....	4
1.2. Elupaikade kadumine.....	5
1.3. Maastikugeneetika.....	7
1.4. Ajalised viibed geneetilise mitmekesisuse ja maastikumutuste vahelistes seostes.....	8
1.5. Uurimisküsimused.....	9
2. Materjal ja meetodika.....	10
2.1. Uurimisliik.....	10
2.2. Proovialad.....	10
2.3. Proovide kogumine.....	12
2.4. Geneetilised andmed.....	12
2.5. Ruumilised andmed.....	13
2.6. Statistiline andmeanalüüs.....	13
3. Tulemused.....	15
3.1. Geneetiline mitmekesisus Lepiku ja Koguva proovialadel.....	15
3.2. Populatsiooni suuruse mõju geneetilisele mitmekesisusele.....	17
3.3. Maastiku struktuuri mõju geenivoolule.....	18
4. Arutelu.....	21
4.1. Elupaikade killustumise ja populatsiooni suuruse mõju geneetilisele mitmekesisusele.....	21
4.2. Maastikugeneetiline paariviisiline võrdlus.....	23
4.3. Järeldused.....	24
Summary.....	27
Tänuavaldused.....	29
Kasutatud kirjandus.....	30
Internetiallikad.....	37
Lisad.....	38
Lisa 1. Definiitsioonid.....	38
Lisa 2.....	39
Lisa 3.....	39

1. Sissejuhatus

Inimtegevusest tulenevad muutused kliimas ja elupaikade kadumine on põhjustamas kuuendat liikide väljasuremislainet (Barnosky *et al.*, 2011). Rahvusvahelise Looduskaitseliidu (ingl *International Union for Conservation of Nature*; IUCN) punase nimestiku kategooriate järgi (IUCN, 2023) on kriitilises seisundis, väljasuremisohus ja ohualtis liikide puhul oodata nende olukorra veel tugevamat halvenemist või väljasuremist. Pöördumatute tagajärgede vältimiseks on vaja kiiresti tegutseda ja leida viise, kuidas liikidele mõjuvat negatiivset survet vähendada (Barnosky *et al.*, 2011; Nic Lughadha *et al.*, 2020). Geneetiline mitmekesisus mängib väga suurt rolli liikide ja populatsioonide kohastumisel muutustega ning madal geneetiline mitmekesisus vähendab oluliselt liikide evolutsioonilist potentsiaali (Bálint *et al.*, 2011). Seetõttu on eduka looduskaitse planeerimise ja liikide käekäigu hindamise juures äärmiselt oluline arvestada peale liigilise ja ökosüsteemide mitmekesisuse ka geneetilise mitmekesisusega (Bálint *et al.*, 2011; DeWoody *et al.*, 2021).

Käesoleva töö eesmärk on anda ülevaade loopealsete killustumise mõjust taimede geneetilisele mitmekesisusele hariliku nurmenuku (*Primula veris*) näitel. Töös analüüsitakse 2014. aastal kogutud Muhu loopealsetel kasvavate hariliku nurmenuku populatsioonide geneetilise mitmekesisuse andmeid. Töös võrreldakse kahte erinevat maastikku, mis ajalooliselt on olnud pea täielikult kaetud loopealsetega ning uuritakse, kuidas on sealne maastiku muutus mõjunud hariliku nurmenuku geneetilisele mitmekesisusele. Lisaks uuritakse erinevate maastikuelementide mõju populatsioonidevahelisele geenivoolule.

1.1. Geneetiline mitmekesisus

Populatsiooni geneetiline mitmekesisus väljendub alleelide* (vt Lisa 1) ehk geenivariantide mitmekesisuses: mida rohkem erinevaid allelele ja erinevate alleelide kombinatsioone ehk genotüüpe* mingis populatsioonis esineb, seda kõrgem on selle populatsiooni geneetiline mitmekesisus (Frankham *et al.*, 2004). Populatsiooni geneetiline mitmekesisus võimaldab liikidel keskkonnamuutustega, aga ka erinevate patogeenidega paremini toime tulla (Frankham *et al.*, 2004; Spielman *et al.*, 2004).

Sõltuvalt sellest, kas vaadeldava liigi uuritavad genoomipiirkonnad asuvad valke kodeerivates geenides või kodeerivatest genoomiosadest väljaspool, võib geneetilise mitmekesisuse jagada neutraalseks ja adaptiivseks geneetiliseks mitmekesisuseks. Neutraalse geneetilise mitmekesisuse hindamiseks kasutatakse sellised molekulaargeneetilisi markereid, mis ei ole loodusliku valiku otsese surve all, sest uuritavad alleelid ei ole keskkonnaga kohastumise seisukohalt olulised (Holderegger *et al.*, 2006; Kimura, 1983). Küll aga annab mitmekesisus nendes genoomipiirkondades olulist informatsiooni populatsioonidevahelise geenivoolu ja geenitriivi* mõju kohta (Holderegger *et al.*, 2006). Adaptiivne geneetiline mitmekesisus väljendub aga alleelide varieeruvuses genoomi selles piirkonnas, kus asuvad valke kodeerivad geenid, mistõttu näitab just adaptiivne geneetiline mitmekesisus populatsiooni võimet kohastuda keskkonnamuutustega (Conner & Hartl, 2004; Holderegger *et al.*, 2006). Paraku on nende geenipiirkondade uurimine keerulisem, kuna eeldab enamasti ka eksperimentaalset kontrolli kinnitamaks n-ö kandidaatlookuste kohastumuslikku tähtsust (Conner & Hartl, 2004). Selleks, et saada terviklik ülevaade keskkonnamuutuste ja elupaikade killustumise mõjust liigi geneetilisele varieeruvusele, tuleks geneetilise mitmekesisuse uuringuid teha kasutades markereid genoomi neutraalsest kui ka adaptiivsest piirkonnast.

1.2. Elupaikade kadumine

Elupaikade pindala ja sidususe vähenemist ehk killustumist peetakse üheks suurimaks elurikkuse kahanemise põhjuseks (Gu *et al.*, 2002; Haddad *et al.*, 2015). Inimtegevuse mõju elupaikade kao põhjustajana on ilmselge. Raadamine, linnastumine ja põllumajandus on ainult mõned inimõjud, mis süvendavad elupaikade kadumist ja sellega kaasnevat elurikkuse vähenemist (Scanes, 2018). Allesjäänud elupaikade bioloogiline mitmekesisus ja sellega seotud ökoloogilised funktsioonid sõltuvad elupaigafragmentide sidususest teiste elupaikadega, nende kvaliteedist ning inimtegevusest tulenevate häiringute mõju suuruselt (Haddad *et al.*, 2015). Vähenenud pindalaga ja killustunud elupaigad on enamasti tunduvalt liigivaesemad kui suured ja sidusad elupaigad (Benítez-Malvido & Martínez-Ramos, 2003; Haddad *et al.*, 2017; Krauss *et al.*, 2004; Raatikainen *et al.*, 2009).

Elupaikade kahanemisel ja killustumisel on negatiivne mõju ka populatsioonide geneetilisele mitmekesisusele (Aguilar *et al.*, 2008). Populatsiooni geneetilist mitmekesisust mõjutavad

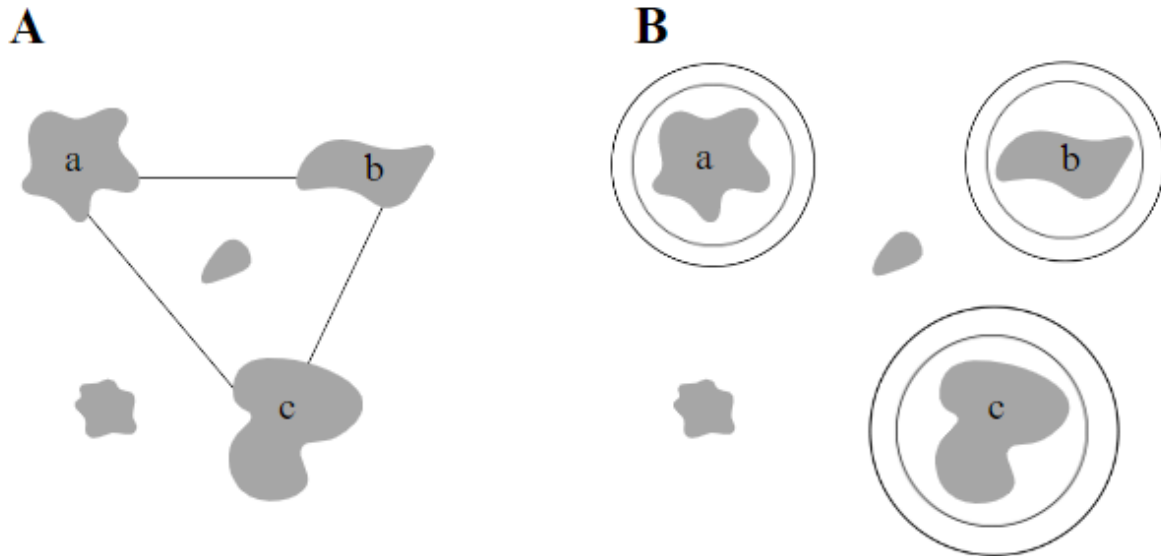
isendite arvukus populatsioonis, geenivool, geenitriiv ja inbriiding*. Kõiki neid tegureid võib elupaikade kahanemine ja killustumine mõjutada. Elupaikade kaoga kaasneb sageli isendite arvukuse kahanemine (Leimu *et al.*, 2006). Väikesed ja ruumiliselt eraldatud populatsioonid on tundlikumad geneetilise mitmekesisuse kahanemise suhtes ning suuremaid ja ruumiliselt sidusaid populatsioone iseloomustab kõrgem geneetiline mitmekesisus ja parem kohasus* (Leimu *et al.*, 2006). Väiksemates populatsioonides on suurem sugulusristumise ehk inbriidingu tõenäosus, mille tulemusena väheneb isendite viljakus, mõõtmed, eluiga ja kahjustustest taastumise võime (Galloway *et al.*, 2003; Leimu *et al.*, 2008; Sheridan & Karowe, 2000). Väiksemates populatsioonides kasvab geenitriivi suhteline roll geneetilise mitmekesisuse kujundamises (Ellstrand & Elam, 1993). Geenitriivi mõjul kaovad populatsioonist harvaesinevad geenivariatsioonid, mis võivad tulevikus olla populatsiooni säilimiseks vajalikud. Lisaks muudab geenitriiv erinevad populatsioonid üksteisest geneetiliselt erinevaks (Ellstrand & Elam, 1993). Populatsiooni geneetilist mitmekesisust suurendab populatsioonidevaheline geenivool, mis taimede puhul leiab üldiselt aset seemnete ning õietolmu leviku teel (Ehrlich & Raven, 1969). Lehman *et al.* 2020 uurimuses leiti, et suurem kaugus taimepopulatsioonide vahel kahandab geneetilise info liikumist ja vähendab populatsioonisisest geneetilist varieeruvust. Geenivoolu tugevust nii taimepopulatsioonide sees kui ka vahel vähendab elupaikade killustumine ning seemnete ja õietolmu vahetust soodustavate organismide vähenemine või kadumine (Mendes *et al.*, 2022; Reinula *et al.*, 2021; Rico *et al.*, 2014).

Kui varasemalt arvati, et elupaikade killustumine ohustab eeskätt haruldaste taimeliikide geneetilist mitmekesisust, siis uuringud näitavad, et elupaikade kahanemine ja killustumine mõjub laialt levinud liikide geneetilisele mitmekesisusele isegi negatiivsemalt (Aguilar *et al.*, 2008; Honnay & Jacquemyn, 2007). Sellest tulevalt võib eeldada, et geneetilise mitmekesisuse vähenemine mõjutab rohkemaid liike, kui varasemalt arvati. Samas mõjutab elupaikade kadu sõltuvalt nende tunnustest taimeliike erinevalt. Näiteks iseviljastuvad taimeliigid on võimelised killustunud elupaikades paremini hakkama saama kui võõrtolmlevad liigid (Honnay & Jacquemyn, 2007). Elupaikade kadumisega väheneb ka tolmeldavate putukate arvukus ja liigiline mitmekesisus, mistõttu muutuvad tolmeldajatest sõltuvad võõrtolmlevad õistaimed elupaikade kao ja killustumise suhtes eriti haavatavaks (Mendes *et al.*, 2022; Rodger *et al.*, 2021)

1.3 Maastikugeneetika

Lisaks elupaikade suurusele ja nendevahelisele geograafilisele kaugusele mõjutab killustunud taimepopulatsioonide geneetilist mitmekesisust ja geenivoolu ka populatsioonide ümbritseva maastiku iseloom, kuna erinevad maastikuelemendid võivad populatsioonidevahelist geneetilise info liikumist seemnete või õietolmu leviku teel toetada või takistada väga erineval määral (Holderegger *et al.*, 2010; Holderegger & Di Giulio, 2010). Maastikugeneetika on teadusharu, mis võimaldab uurida seoseid maastike struktuuri ja populatsioonide geneetilise materjali ruumilise paiknemise vahel (Manel *et al.*, 2003). Maastikugeneetikas kombineeritakse maastikuökoloogilisi ning populatsioonigeneetilisi meetodeid, mis aitab paremini mõista, kuidas muutused keskkonnas ja maastikes mõjutavad geenitriivi, geenivoolu, populatsioonide geneetilist struktuuri ja kohasust (Manel *et al.*, 2003). Maastikugeneetika areng on märkimisväärselt hoogustunud seoses geneetiliste meetodite kiire arenguga, mis võimaldab analüüsida suurt hulka geneetilist materjali väiksema aja ja rahalise kuluga (Storfer *et al.*, 2007). Taimede kohta tehtud maastikugeneetilised uuringuid on endiselt pigem vähe ning taimedevaheliste interaktsioonide kohta on võimalik veel palju uusi teadmiseid koguda (Cruzan & Hendrickson, 2020).

Maastiku ja geneetiliste andmete vaheliste seoste uurimiseks on kaks põhilist viisi: sõlmepõhine (ingl *node-based*) ja seosepõhine (ingl *link-based*) meetod (Joonis 1). Sõlmepõhine meetod seostab geneetilise mitmekesisuse andmeid seda ala ümbritsevate maastikuelementidega või keskkonnatingimustega alal või ala ümbruses. Keskendutakse sellele, et mõista, miks on antud piirkonnas sellised geneetilise mitmekesisuse näitajad (Wagner & Fortin, 2013). Seosepõhine meetod uurib paariviisiliselt indiviidide või populatsioonide geneetilise, geograafilise ja maastikulise distantse seost. Peamiselt tahetakse selle meetodiga teada, kuidas mõjutavad erinevad maastikuelemendid populatsioonidevahelist geenivoolu (Wagner & Fortin, 2013).



Joonis 1. Kaks peamist meetodit, millega uuritakse maastikumuutuste mõju geneetilisele mitmekesisusele – seosepõhine meetod „*link-based*“ (a) ja sõlmepõhine meetod „*node-based*“ (b). Joonis on kohandatud DiLeo & Wagner (2016) järgi.

1.4. Ajalised viibed geneetilise mitmekesisuse ja maastikumuutuste vahelistes seostes

Populatsioonide geneetilise struktuuri uurimisel tuleb arvestada võimaliku ajalise nihkega. See tähendab, et muutused maastikes toimuvad kiiremini kui taimede geneetiline mitmekesisus ja struktuur neile reageerida jõuab (Münzbergová *et al.*, 2013). Seetõttu võib populatsioonide tänapäevases geneetilises mitmekesisuses peegelduda hoopis ajaloolise maastiku struktuuri mõju (Aavik *et al.*, 2019; Epps & Keyghobadi, 2015). Eriti just pikaealiste taimede puhul võib ajalooliste elupaikade sidusus olla veel tänapäevalgi väljendunud populatsioonide geneetilises struktuuris (Münzbergová *et al.*, 2013). Näiteks Reinula *et al.* (2021) töös uuriti Lääne-Eesti saartel leiduvate hariliku nurmenuku populatsioonide geneetilise mitmekesisuse seost maastikumuutusetega. Uuritud alasid iseloomustasid ajalooliselt ulatuslikud loopealsed, mille pindala on tänapäevaks oluliselt vähenenud (Helm *et al.*, 2006). Töös leiti, et osade hariliku nurmenuku asurkondade puhul oli veel ilmselt säilinud ajalooline geneetiline mitmekesisus, mis tähendab, et loopealsete taastamine aitaks vältida nende populatsioonide geneetilist vaesumist (Reinula *et al.*, 2021).

Suurte globaalsete muutuste valguses on vaja jälgida, et taastatud ökosüsteemid peaksid vastu keskkonnamuutuste survele ning säilitaksid geneetilise mitmekesisuse, mis annaks neile kõrge evolutsioonilise potentsiaali (Aavik & Helm, 2018). Selleks peab taastama alasid nii, et taimed saaksid maastikes oma geene kas siis leviste või õietolmu teel edasi kanda (Aavik & Helm, 2018). Tuleb aga arvestada sellega, et ka taastamise mõju geenivoolule ja geneetilisele mitmekesisusele võib avalduda viibega (Aavik *et al.*, 2013).

1.5. Uurimisküsimused

Pärändniidud ehk poollooduslikud kooslused on ajalooliselt põllumajanduslikus kasutuses olnud karja- ja heinamaad, mida iseloomustab kõrge liigiline mitmekesisus. Nende regulaarne niitmine või karjatamine on vajalik koosluste püsijäämiseks ning soodustab poollooduslike koosluste liigirikkuse säilimist ning geenivoolu (Eriksson *et al.*, 2002; Lehman *et al.*, 2020). Eelmise sajandi jooksul on poollooduslike rohumaade pindala Euroopas vähenenud ligikaudu 96%, põhjuseks intensiivistunud põllumajandus, mille tõttu poollooduslikud alad kas metsastatakse, muudetakse põllumaaks või loobutakse nende alade regulaarsest kasutamisest (Cousins *et al.*, 2015; Picó & Van Groenendael, 2007).

Mitmed maastikugeneetilised taimedele keskenduvad uuringud on läbi viidud just pärändniitudel, kuna nende elupaikadega seotud kiired pindala ja sidususe muutused aitavad paremini mõista viimasel sajandil asetleidnud maastikumuutuste mõju elurikkusele (Helm *et al.*, 2009; Lehman *et al.*, 2020). Ka käesolevas töös kasutatakse mudelsüsteemina poollooduslike rohumaade ehk pärändniite ja pärändniitude ühte iseloomulikku taimeliiki, harilikku nurmenukku. Töö eesmärk on hinnata, kuidas mõjutavad poollooduslike rohumaade kadumine ja maastikumuutused hariliku nurmenuku populatsioonide geneetilist mitmekesisust ja geenivoolu. Töös vastatakse järgmistele uurimisküsimustele:

- (1) Kas viimase saja aasta jooksul killustunud maastikes on taimede geneetiline mitmekesisus väiksem kui sidusates maastikes?
- (2) Kuidas mõjutab geneetilist mitmekesisust populatsiooni suurus?
- (3) Millised maastikuelemendid toetavad ja takistavad niiduliikide geenivoolu killustunud niidulaikude vahel?

2. Materjal ja metoodika

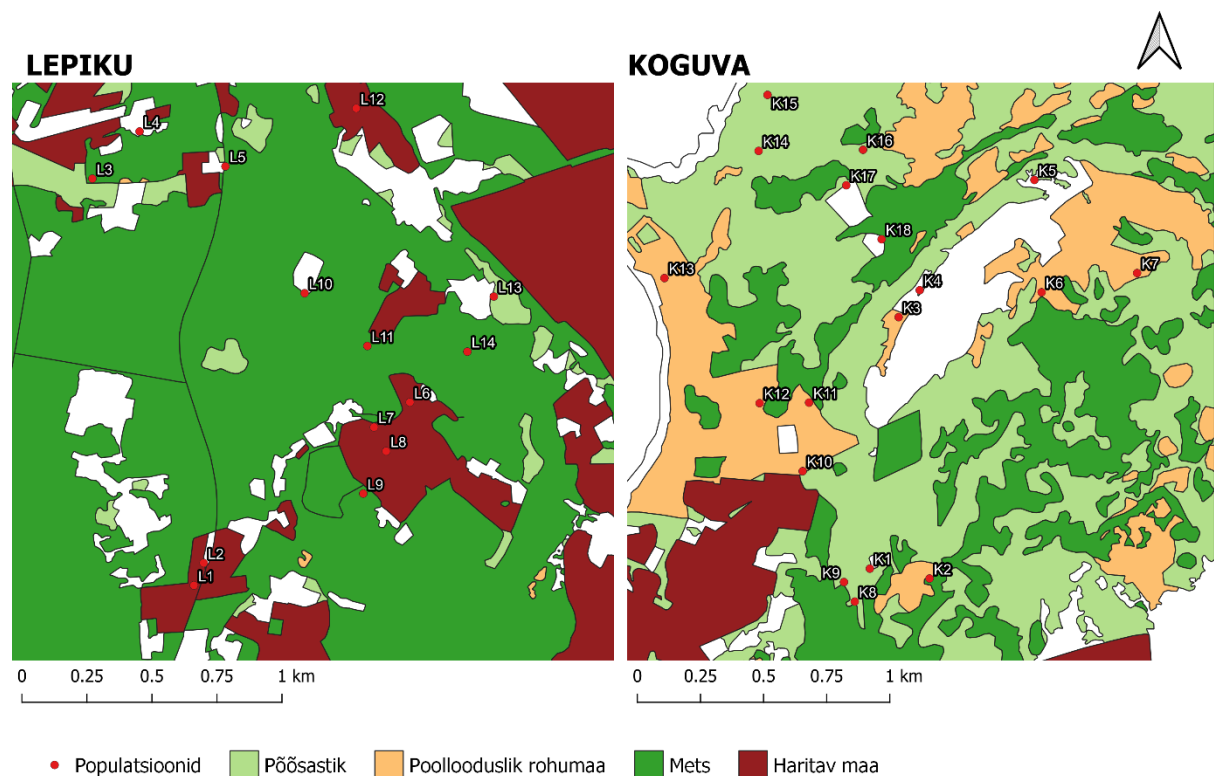
2.1. Uurimisliik

Harilik nurmenukk (*Primula veris*) on mitmeaastane valgusnõudlik rohttaim (Brys & Jacquemyn, 2009). Teadaolevalt võib hariliku nurmenuku isend elada üle 50 aasta (Ehrlén & Lehtilä, 2002). Harilikul nurmenukul on iseloomulik ühekülgne sarikõisik erekollaste õitega, lehed on juurmiselt kodarikus ning alt kergelt karvased. Harilik nurmenukk eelistab kasvamiseks kuivasid lubjarikka mullaga alasid, näiteks paese aluspõhjaga pärandniite ja kadastikke, mistõttu on teda rohkem Eesti põhja-ja lääneosas (Kukk, 2022). Liigi looduslik levikuareaal katab suure osa Euroopast (v.a mõned alad Vahemere ääres) kuni Siberini (Brys & Jacquemyn, 2009). Harilik nurmenukk õitseb Eestis tavaliselt maikuu. Harilik nurmenukk on võõrtolmlev liik, seega on taime tolmeldamiseks väga oluline erinevate tolmeldajate olemasolu. Hariliku nurmenuku tolmeldajate hulka kuuluvad liigid kiletiivaliste (*Hymenoptera*), kahetiivaliste (*Diptera*), mardikaliste (*Coleoptera*) ja liblikaliste seltsist (*Lepidoptera*) (Brys & Jacquemyn, 2009). Taime seemned ei levi emataimest väga kaugele, sest kupra avanemisel pudenevad enamus seemneid ise maha või kannavad neid edasi tuul ja vihmavesi (Brys & Jacquemyn, 2009). Harilik nurmenukk on heterostüülne ehk erikaelne liik: nurmenukudel esinevad S - ja L - tüüpi õitega isendid. See tähendab, et taim ei ole mitte ainult võimeline iseviljastumiseks, vaid vajab edukaks viljastumiseks õietolmu teist tüüpi õitega isenditelt (Ganders, 1979). Harilik nurmenukk valiti töös uurimisliigiks, kuna pikaealise ja putuktolmleva liigina on elupaiga killustumise mõju nende geneetilisele mitmekesisusele tugevam ning hästi jälgitav (Aguilar *et al.*, 2008; Brys & Jacquemyn, 2009).

2.2. Proovialad

Töös kasutatud andmete kogumiseks valitud kaks 2 * 2 km ala asuvad Muhus ja on tähistatud läheduses asuvate külade järgi nimedega Koguva ja Lepiku. Ajalooliselt on mõlemad alad olnud suures osas kaetud loopealsete ehk alvaritega, kuid viimase aastasaja jooksul on Lepiku maastik märkimisväärselt muutunud (Laasimer, 1965). Loopealsed on ordoviitsiumi või siluri paekivil olevad õhukese mullaga liigirikkad kooslused, kuid tänapäeval on kunagistest

loopealsetest säilinud ainult 30% (Laasimer, 1965; Pärtel *et al.*, 1999). Loopealseid iseloomustab madal ja ekstreemsetele tingimustele vastupidav taimestik (Helm, 2011). Osa Lepiku loopealsest on kinnikasvanud puude ja põõsastega, viljakamad alad on aga kasutusel põllumaana (Joonis 2). Koguvast asuv loopealne esindab avatud maastiku, kus pärändniitude osakaal on ajas vähenenud, kuid siiski üsna kõrge (Joonis 2). Lepiku ja Koguva alad on heaks näiteks sellest, kuidas pärändniitude ehk poollooduslike koosluste kasutus on Eestis ja mujal maailmas aja jooksul muutunud. Pärändniitude karjatamisest ja niitmisest on loobutud, sest põllumajandus ja loomakasvatus on intensiivistunud, mille tulemusena vähemviljakad niidud ja karjamaad võsastuvad (valdav protsess Koguva proovialal). Viljakamatele poollooduslikele rohumaadele on istutatud mets või muudetud see põllumaaks (Lepiku).



Joonis 2. Uuritavate maastikuelementide jaotus ja hariliku nurmenuku populatsioonide asukoht Koguva ja Lepiku proovialadel Muhu saarel. L1 – L14 tähistavad Lepiku prooviala populatsioone ja K1 – K18 Koguva prooviala populatsioone.

2.3. Proovide kogumine

Välitööd hariliku nurmenuku populatsioonide kaardistamiseks ja proovide kogumiseks toimusid 2014. aasta mais. Välitööde käigus koguti leheproove 18-st populatsioonist Koguvast ja 14-st populatsioonist Lepikul. Populatsioonid jaotati vastavalt isendite arvule nelja kategooriasse: väikesed populatsioonid (10-100 õitsvat taime), keskmised populatsioonid (100-500 õitsvat taime), suured populatsioonid (500-1000 õitsvat taime) ja väga suured populatsioonid (> 1000 õitsvat taime). Koguva ala populatsioonid asusid enamasti loopealsetel. Lepikul, kus loopealsed on tänaseks valdavalt kadunud, leiti lisaks populatsioone teeservadest ja muudelt aladelt, mida ei hooldata regulaarselt, sh endistelt põldudelt. Igast populatsioonist valiti juhuslikult üle kogu populatsiooni 20 isendit ja koguti neilt 1-3 lehte. Sealjuures jälgiti, et uuritavad isendid asuksid üksteisest vähemalt ühe meetri kaugusel. Kogutud proovid säilitati silikageelis kuni DNA eraldamiseni.

2.4. Geneetilised andmed

Täpsema ülevaate laboritööst ja bioinformaatilisest analüüsist annab (Reinula *et al.*, 2021) uurimus, kus andmestik oli küll teine, kuid kasutati sama laboratoorset ja bioinformaatilist protokollit, samuti on üldine töövoog sarnane Reinula *et al.* (2021) uurimusele. Laboritöö ja proovide kogumine oli tehtud juba varasemalt ning töö autor selles etapis ei osalenud. DNA eraldamiseks kasutati LGC *sbeadex plant kit*-i (LGC, Berlin, Germany), täpsema ülevaate DNA eraldamise kohta leiab (Träger *et al.*, 2021) tööst. Pärast DNA eraldamist valmistati sekveneerimiseks ddRAD (ingl *Double digest restriction-site associated DNA*) (Peterson *et al.*, 2012) meetodit kasutades raamatukogu ning DNA sekveneeriti. ddRAD on DNA sekveneerimise meetod, mis võimaldab efektiivselt valmistada ette andmestik genoomist üksinukleotiidsete polümorfismide ehk SNP-ide (ingl *single nucleotide polymorphism*) leidmiseks (Peterson *et al.*, 2012). SNP on tehniliselt mutatsioon, mille käigus on DNA järjestuses muutunud üks nukleotiid teiseks (Heinaru, 2012). Sekveneeritud DNA fragmendid analüüsiti ja filtreeriti bioinformaatiliselt ning neist jäeti alles neutraalsed geneetilised markerid. SNP-de põhjal arvutati antud töös kasutusel olevad geneetilise erinevuse tulemused (F_{ST}) ja geneetilise mitmekesisuse indekseid väärtused: oodatav heterosügootsus* (kallutamata oodatav heterosügootsus (uH_e)) võtab arvesse

erinevusi populatsioonide suuruses, töös edaspidi mainitud kui oodatav heterosügootsus), vaadeldud heterosügootsus (H_o), polümorfsete* lookuste* protsent (%P) ja sugulusristumise e inbriidingu koefitsient* (F_{IS}). Indeksite arvutamiseks kasutati programme GENALEX (Peakall & Smouse, 2012) ja R-i (R Core Team, 2022) paketti “genepop” (Rousset, 2008).

2.5. Ruumilised andmed

Antud uurimuses kasutatud ruumilised andmed ja maastikutüübid kirjeldati 2015. aastal proovialadest tehtud Maa-ameti aerofotode ja 2015. aasta Eesti põhikaardi (Eesti põhikaart [2015], Maa-amet) järgi. Ruumiliste andmete kirjeldamiseks kasutati QGISi versiooni 3.28.4 (QGIS Development Team, 2023). Populatsioonidevahelise maastiku iseloomustamiseks genereeriti analüüsitaval kaardikihil populatsioone ühendavad sirged (geograafiline kaugus), mille ümber loodi 50 m raadiusega puhver. Valiti välja neli erinevat kõige suurema katvusega maastikuelementi (poollooduslik rohumaa, mets, põõsastik ja haritav maa), mille protsentuaalset osakaalu loodud puhvrites hinnati (n-ö maastikuline kaugus). Hariliku nurmenuku populatsioonide paariviisilise geograafilise kauguse ja populatsioonidevahelise maastikuelementide osakaalu arvutamise hõlbustamiseks QGIS programmis kasutati Pythoni programmeerimiskeelt.

2.6. Statistiline andmeanalüüs

Andmeanalüüs koosnes mitmest etapist. Andmeanalüüsi esimene pool oli populatsioonide geneetilise mitmekesisuse indeksite (H_o , uH_e , F_{IS} ja %P) võrdlemine kinnikasvanud loopealsetega maastiku (Lepiku) ja võrdlemisi suure loopealsete pindalaga maastiku (Koguva) vahel kasutades T-testi. Kõik geneetilise mitmekesisuse indeksid vastasid Shapiro - Wilk testiga kontrollides normaaljaotusele (H_o : $P = 0,809$; uH_e : $P = 0,182$; %P: $P = 0,053$; F_{IS} : $P = 0,647$). Shapiro-Wilk testi puhul tähendab P-väärtus $> 0,05$, et tegemist on normaaljaotusega. Lisaks hinnati dispersioonanalüüsi (ANOVA) abil populatsioonide suurusklasside mõju geneetilise mitmekesisuse indeksitele. Populatsioonide suurusklasside vaheliste erinevuste olulise hindamiseks kasutati Tukey testi.

Teine osa andmeanalüüsis keskendus maastikugeneetilisele analüüsile kasutades seosepõhist (ingl *link-based*) maastikugeneetilist meetodit. Kõigepealt kontrolliti maastikuelementide (haritav maa, mets, poollooduslik rohumaa, põõsastik) omavahelist korrelatsiooni. Tugevalt korreleeruvate maastikuelementide (korrelatsioonikoefitsent $r > 0.7$) puhul jälgiti seda, et nad mudelites koos ei esineks. Maastikuelementide osakaalu mõju uurimiseks hariliku nurmenuku populatsioonide vahelisele geenivoolule rakendati R-i paketti „MCMCglmm“ segamudeleid (ingl *multivariate generalized mixed effect model*) (Hadfield, 2010). Segamudelitesse arvestati sisse paariviisiline struktuur, kuna seosepõhise maastikugeneetilise meetodi rakendamisel kasutati kõikide hariliku nurmenuku populatsioonide andmeid korduvalt. Mudelid tehti Koguva ja Lepiku proovialade kohta eraldi. Igasse mudelisse lisati sõltuva tunnuseks paariviisiline geneetiline erinevus (F_{ST}) ja seda mõjutavate tegurite tuvastamiseks geograafiline kaugus ja maastikuelementide osakaalud. Parim mudel valiti hälbe informatsioonikriteeriumi (*deviance information criterion*; edaspidi DIC) järgi, lähtudes kõige madalamast tulemusest nii Koguvast kui ka Lepikul. Sealhulgas loeti parimateks mudeliteks ka rohkem kui üks mudel, kui mudeli $\Delta DIC < 2$. Statistilise andmeanalüüsi läbiviimiseks kasutati R tarkvarapaketi versiooni 4.2.1 (R Core Team, 2022) ja RStudio versiooni 2022.07.1 + 554 (Rstudio Team, 2022). Geneetilise erinevuse (F_{ST}) puhul tasub tähele panna, et see võib iseloomustada pigem ajaloolist maastiku struktuuri (Whitlock & McCauley, 1999). Kaasaaegse maastiku mõju hindamiseks võiks sarnase analüüsi viia läbi ka adaptiivse geneetilise infoga.

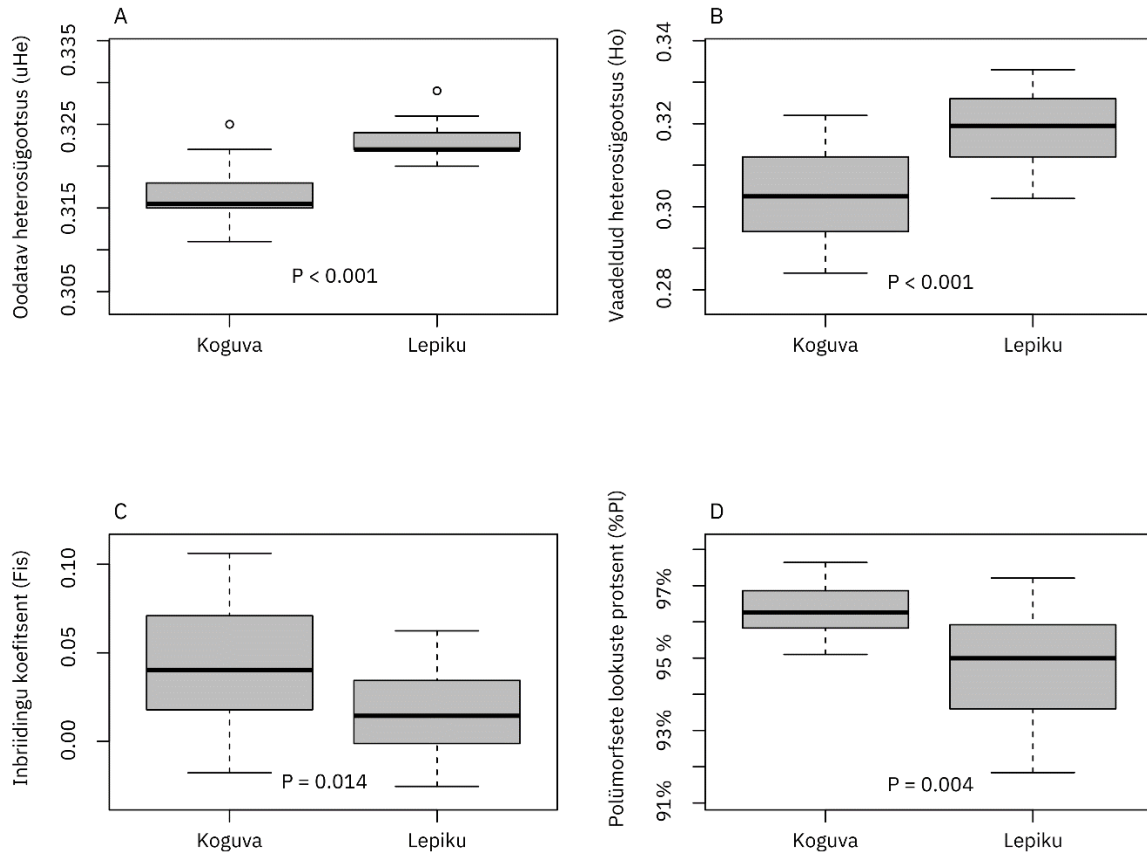
3. Tulemused

3.1. Geneetiline mitmekesisus Lepiku ja Koguva proovialadel

Geneetilise mitmekesisuse indekseid (Tabel 1) võrdlemine erineva sidususega aladel näitas, et vaadeldud heterosügootsus (H_o ; $P < 0,001$) ja oodatav heterosügootsus (uH_e ; $P < 0,001$) oli kõrgem Lepikul (Joonis 3). Inbriidingu koefitsient (F_{IS} ; $P = 0,014$) ja polümorfsete lookuste protsent (%P; $P = 0,004$) oli kõrgem Koguvast (Joonis 3). Koguva populatsioonide keskmine oodatav heterosügootsus (uH_e) oli 0,317 (siin ja edaspidi esitatud standardhälve $\pm 0,003$) ning Lepikul populatsioonide keskmine uH_e 0,323 ($\pm 0,0024$). Vaadeldud heterosügootsus (H_o) oli Koguvast keskmiselt 0,304 ($\pm 0,011$) ja Lepikul keskmiselt 0,319 ($\pm 0,009$). Inbriidingu koefitsient (F_{IS}) oli Koguvast keskmiselt 0,04 ($\pm 0,033$) ja Lepikul 0,015 ($\pm 0,025$). Polümorfsete lookuste protsent (%P) Koguvast oli 96,34% ($\pm 0,8\%$) ja Lepikul 94,82% ($\pm 1,6\%$).

Tabel 1. Geneetilise mitmekesisuse hindamiseks kasutatud andmed ja Koguva ning Lepiku populatsioonide üldine informatsioon. Oodatav heterosügootsus (uH_e), vaadeldud heterosügootsus (H_o), inbriidingu koefitsient (F_{IS}), polümorfsete lookuste protsent (%P), populatsiooni tähis (pop tähis) ja populatsiooni suurus (pop suurus).

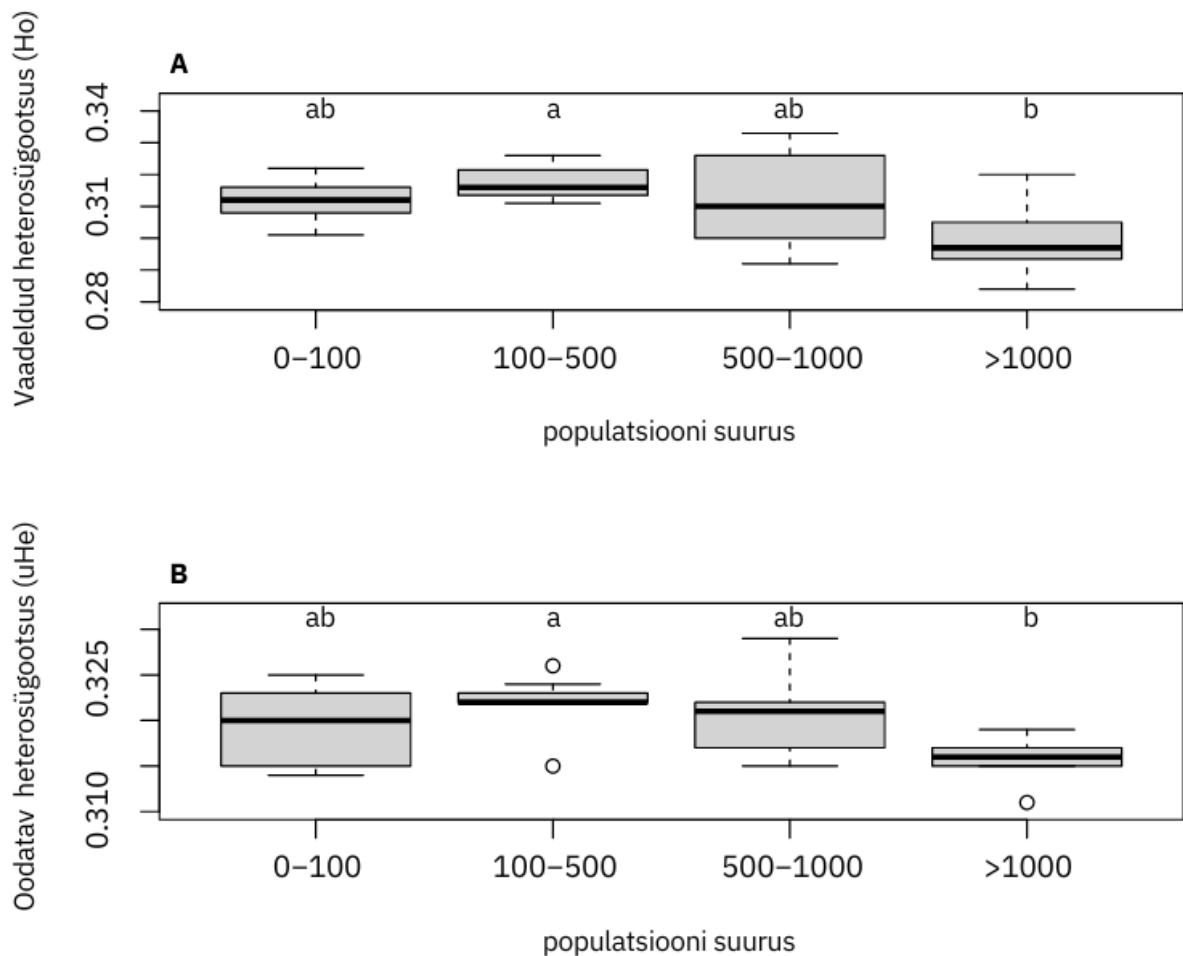
Pop tähis	Laius- kraad	Pikkus- kraad	Pop suurus	Proovide arv				
					H_o	uH_e	F_{IS}	%P
K1	58,604871	23,092243	>1000	20	0,301	0,319	0,0578	97%
K2	58,60455	23,09632	>1000	20	0,293	0,316	0,0752	96%
K3	58,613822	23,093974	500-1000	20	0,31	0,315	0,0179	97%
K4	58,61479	23,095387	500-1000	20	0,292	0,315	0,0752	96%
K5	58,618764	23,103103	500-1000	20	0,294	0,32	0,0838	97%
K6	58,614775	23,103695	>1000	17	0,297	0,318	0,0709	96%
K7	58,615503	23,110189	>1000	20	0,284	0,316	0,1062	96%
K8	58,603692	23,091249	0-100	20	0,301	0,314	0,0446	95%
K9	58,604381	23,090494	>1000	20	0,294	0,311	0,0575	96%
K10	58,608301	23,087576	500-1000	20	0,3	0,317	0,0539	97%
K11	58,610742	23,087945	100-500	20	0,312	0,315	0,0087	97%
K12	58,610698	23,084577	100-500	20	0,316	0,322	0,0209	97%
K13	58,615098	23,077977	0-100	20	0,322	0,325	0,0092	98%
K14	58,619664	23,084278	0-100	20	0,308	0,317	0,0285	97%
K15	58,621658	23,084831	0-100	17	0,314	0,314	0,0023	95%
K16	58,619753	23,091394	0-100	19	0,304	0,315	0,0361	96%
K17	58,618483	23,090283	>1000	19	0,32	0,315	-0,0177	96%
K18	58,616583	23,092741	>1000	18	0,309	0,315	0,0224	96%
L1	58,62131	23,231879	0-100	19	0,309	0,324	0,0505	96%
L2	58,622086	23,232513	0-100	20	0,316	0,322	0,0209	95%
L3	58,635303	23,22485	0-100	20	0,318	0,32	0,0072	97%
L4	58,63695	23,22794	500-1000	20	0,326	0,322	-0,0104	97%
L5	58,635778	23,233651	100-500	19	0,315	0,322	0,0219	96%
L6	58,627712	23,246039	100-500	19	0,326	0,326	0,0026	94%
L7	58,626839	23,243685	100-500	19	0,311	0,322	0,035	94%
L8	58,626014	23,244507	0-100	16	0,312	0,323	0,0344	92%
L9	58,624543	23,243022	500-1000	20	0,33	0,322	-0,0254	94%
L10	58,631434	23,238991	500-1000	20	0,302	0,321	0,0624	95%
L11	58,629637	23,243185	100-500	18	0,322	0,322	-0,0012	94%
L12	58,637834	23,242268	500-1000	20	0,321	0,326	0,0167	97%
L13	58,631393	23,251519	500-1000	19	0,333	0,329	-0,0117	95%
L14	58,62948	23,249808	100-500	17	0,321	0,324	0,0122	93%



Joonis 3. Hariliku nurmenuku geneetiline mitmekesisus Koguva ja Lepiku proovialadel Muhus, (A) oodatav heterosügootsus (uH_e), (B) vaadeldud heterosügootsus (H_o), (C) inbriidingu koefitsient (F_{IS}) ja (D) polümorfsete lookuste protsent (%PI).

3.2. Populatsiooni suuruse mõju geneetilisele mitmekesisusele

Populatsiooni suurus mõjutas oluliselt vaadeldud heterosügootsust ($P = 0,035$) ja oodatavat heterosügootsust ($P = 0,037$; Joonis 4). Täpsemal võrdlusel leiti, et nii oodatava kui ka vaadeldud heterosügootsuse puhul oli statistiliselt oluline ($P > 0,05$) erinevus populatsiooni suuruste 100-500 ja > 1000 vahel. Populatsioonid suurusega 100-500 olid geneetiliselt mitmekesisemad kui populatsioonid suurusega > 1000 . Populatsiooni suurus ei mõjutanud inbriidingu koefitsienti ja polümorfsete lookuste protsenti.



Joonis 4. Vaadeldud heterosügootsus (H_o ; A) ja oodatav heterosügootsus (uH_e ; B) erineva suurusega hariliku nurmenuku populatsioonides Muhus. Joonisel tähistavad “a” ja “b” neid populatsioonisuurusi, mille vahel esines statistiliselt oluline erinevus.

3.3. Maastiku struktuuri mõju geenivoolule

Maastiku struktuuri mõju hindamiseks geenivoolule kasutati nelja erinevat maastikuelementi (Tabel 2), mis olid kõige suurema katvusega. Koguva populatsioonide vahelist geneetilist erinevust mõjutas erinevatest maastikuelementidest kõige enam põõsastiku osakaal (Tabel 2): mida rohkem esines populatsioonide vahel põõsastikku, seda kõrgem oli nende populatsioonide vaheline geneetiline distant (ehk madalam geenivool; Tabel 3; Lisa 2). Lisaks oli mudelites oluline ka populatsioonidevaheline geograafiline distant: mida

kaugemal populatsioonid üksteisest asusid, seda suurem oli nende populatsioonide vaheline geneetiline erinevus (Tabel 3).

Tabel 2. Koguva ja Lepiku proovialade paariviisilise seosepõhise analüüsi puhvritesse ($r = 50$ m) jäävate maastikuelementide osakaalud. Eri populatsioonide vahele jäi ka teisi maastikuelemente, mille mõju geenivoolule ei hinnatud. Sellest tulenevalt ei anna protsentide summa tulemuseks 100%.

	Koguva	Lepiku
Poollooduslik rohumaa	17%	0,05%
Mets	21%	65%
Põõsastik	47%	2,5%
Haritav maa	0,8%	23%

Tabel 3. Geograafilise kauguse ning erinevate maastikuelementide osakaalu mõju populatsioonidevahelisele geneetilisele erinevusele Koguva proovialal Muhus. F_{ST} -geneetiline erinevus, dist- geograafiline vahemaa populatsioonide vahel. Tumedas trükis on väljatoodud parimad mudelid DIC väärtuse põhjal ($\Delta DIC < 2$). A1-A16 tähistavad Koguva prooviala kohta tehtud eri mudeleid.

Nr	Mudel	DIC
A1	F_{ST}~dist	-1362,12
A2	F_{ST} ~dist+poollooduslik rohumaa	-1361,51
A3	F_{ST} ~dist+mets	-1360,09
A4	F_{ST}~dist+põõsastik	-1363,56
A5	F_{ST} ~dist+haritav maa	-1360,11
A6	F_{ST} ~dist+poollooduslik rohumaa+haritav maa	-1359,46
A7	F_{ST} ~dist+poollooduslik rohumaa+mets	-1359,57
A8	F_{ST} ~dist+poollooduslik rohumaa+põõsastik	-1361,48
A9	F_{ST} ~dist+mets+põõsastik	-1361,53
A10	F_{ST} ~dist+haritav maa+mets	-1358,04
A11	F_{ST} ~dist+haritav maa+põõsastik	-1361,55
A12	F_{ST} ~dist+poollooduslik rohumaa+haritav maa+põõsastik	-1359,45
A13	F_{ST} ~dist+poollooduslik rohumaa+mets+haritav maa	-1357,55
A14	F_{ST} ~dist+poollooduslik rohumaa+mets+põõsastik	-1359,25
A15	F_{ST} ~dist+haritav maa+mets+põõsastik	-1359,5
A16	F_{ST} ~dist+haritav maa+mets+põõsastik+poollooduslik rohumaa	-1357,25

Lepiku puhul korreleerusid omavahel haritav maa ja mets ($r > 0,7$, $P = -0,91$) ja seetõttu ei pandud neid ühte mudelisse. Kuus mudelit olid DIC väärtuse põhjal võrdväarsed ($\Delta\text{DIC} < 2$), mistõttu on keeruline esitada parimat tulemust (Tabel 4). Ainus statistiliselt oluline tegur oli Lepiku populatsioonide vahelise geneetilise erinevuse mõjutajana ruumiline kaugus (vt Lisa 3). Mida lähemal populatsioonid üksteisele paiknesid, seda geneetiliselt erinevamad nad olid (Tabel 4).

Tabel 4. Geograafilise kauguse ning erinevate maastikuelementide osakaalu mõju populatsioonidevahelisele geneetilisele erinevusele Lepiku proovialal Muhus. F_{ST} -geneetiline erinevus, dist- geograafiline vahemaa populatsioonide vahel. Tumedas trükis on väljatoodud parimad mudelid DIC väärtuse põhjal. B1-B12 tähistavad Lepiku prooviala kohta tehtud erinevaid mudeleid.

Nr	Mudel	DIC
B1	$F_{ST} \sim \text{dist}$	-728,136
B2	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{poollooduslik rohumaa}$	-726,733
B3	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{mets}$	-726,245
B4	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{põõsastik}$	-727,152
B5	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{haritav maa}$	-727,661
B6	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{poollooduslik rohumaa} + \text{haritav maa}$	-726,03
B7	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{poollooduslik rohumaa} + \text{mets}$	-724,828
B8	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{poollooduslik rohumaa} + \text{põõsastik}$	-725,209
B9	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{mets} + \text{põõsastik}$	-725,287
B10	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{haritav maa} + \text{põõsastik}$	-726,169
B11	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{poollooduslik rohumaa} + \text{haritav maa} + \text{põõsastik}$	-724,222
B12	$F_{ST} \sim \text{dist} + \text{poollooduslik rohumaa} + \text{mets} + \text{põõsastik}$	-723,345

4. Arutelu

Elupaikade seisund ja liigiline mitmekesisus on looduslike ja poollooduslike ökosüsteemide pindala vähenemise ja sidususe kadumise tõttu halvenenud (Haddad *et al.*, 2015). Selleks, et erinevad liigid suudaksid killustunud aladel keskkonnamuutustega kohaneda on oluline, et populatsioonid oleksid geneetiliselt mitmekesised (Bálint *et al.*, 2011). Geneetilise mitmekesisuse hindamine ja seda mõjutatavate tegurite leidmine aitab tagada looduskaitsetegevuse tulemuslikkust ning luua jätkusuutlikke populatsioone. Antud töös keskenduti poollooduslike rohumaade muutuse mõju uurimisele. Poollooduslikud rohumaad on väga liigirikkad kooslused, mis on maakasutuse muutuste tõttu suure osa oma kunagisest pindalast kaotanud. Käesolevas töös kasutati loopealsetel leiduvaid hariliku nurmenuku populatsioone, et uurida maastike killustumise ja populatsioonide suuruse mõju hariliku nurmenuku populatsioonide geneetilisele mitmekesisusele. Lisaks uuriti ka seda, kas ja kuidas mõjutab maastiku struktuur hariliku nurmenuku populatsioonidevahelist geenivoolu.

4.1. Elupaikade killustumise ja populatsiooni suuruse mõju geneetilisele mitmekesisusele

Erinevates uurimistöodes on leitud, et sidus maastik mõjub taimepopulatsioonide geneetilisele mitmekesisusele positiivselt (Honnay & Jacquemyn, 2007; Lehmail *et al.*, 2020; Leimu *et al.*, 2006). Neutraalse geneetilise mitmekesisuse indekseid võrdlus näitas, et Lepiku proovialal, mis esindab fragmenteerunud maastikku, on hariliku nurmenuku populatsioonide geneetiline mitmekesisus hoopiski kõrgem kui Koguva avatud maastikuga proovialal. Sellel ootamatul tulemusel võib olla mitu erinevat põhjust. Esiteks, Koguva hariliku nurmenuku populatsioonide madalamat geneetilist mitmekesisust võrreldes Lepiku populatsioonidega võib osaliselt seletada tolmeldajate käitumisega. Näiteks Westphal *et al.* 2006 tehtud uuringus leiti, et tolmeldajate lennudistants on lühem piirkondades, kus oli küllaldaselt ressursse toitumiseks. Kuna Lepiku populatsioonid on rohkem killustunud ja puittaimestiku osakaal on suur, siis peavad sealsed tolmeldajad sobivate õistaimede leidmiseks pikemaid vahemaid läbima ja seetõttu ka rohkem erinevate populatsioonide vahel lendama. See omakorda suurendab populatsioonidevahelist geenivoolu ja võib olla üks põhjuseid, miks Lepiku populatsioonide geneetiline mitmekesisus on keskmiselt kõrgem kui Koguvas.

Teiseks, kõrge geneetiline mitmekesisus killustunud maastikes võib peegeldada ajaloolise maastiku mõju tänapäevasele geneetilisele mitmekesisusele. Mitmetes uurimistöodes on leitud, et populatsioonide geneetilist mitmekesisust ja liigirikkust mõjutab rohkem nende alade ajalooline sidusus kui tänapäevane, viidates selgelt väljasuremisvõlale (Helm *et al.*, 2006; Reisch *et al.*, 2017; Tilman *et al.*, 1994). Reisch *et al.* 2017 uurimuses leiti, et kuigi lubjarikaste rohumaade pindala oli vähenenud ligikaudu 90%, mis on võrreldav Lepiku alal asetleidnud loopealsete kadumisega, ei olnud sellel populatsioonide geneetilisele mitmekesisusele olulist mõju. Lepiku prooviala kinni kasvamine algas ligikaudu 100 aastat tagasi (Laasimer 1965). Harilik nurmenukk on pika elueaga taim ja seetõttu on üsna tõenäoline, et Lepiku populatsioonide kõrgem geneetiline mitmekesisus võib olla mõjutatud ajaloolise loopealse suurusest, ning maastikumuutuste mõju ei ole veel kohalike populatsioonide geneetilist mitmekesisust vähendama hakanud.

Kuigi Koguva populatsioone iseloomustas madalam heterosügootsus, oli polümorfsete lookuste protsent sealsetes populatsioonides kõrgem kui Lepikul. Polümorfsete lookuste protsent on seotud populatsiooni võimega kliimamuutustega kohaneda (Jiménez-Alfaro *et al.*, 2016). Tulemus näitab, et Koguva populatsioonides on siiski rohkem erinevaid geenivariante ja seega ka parem võime kohastuda erinevate muutustega. Lepiku populatsioonide madalam polümorfsete lookuste protsent võib olla vihje ohule, et populatsioonide geneetiline mitmekesisus hakkab vaikselt vähenema. Et aga täpsemalt hinnata erinevatel proovialadel paiknevate populatsioonide võimet kohastuda keskkonnamuutustega, tuleks lähemalt uurida alleelide mitmekesisust adaptiivsetes lookustes.

Väiksemaid populatsioone iseloomustab sageli madalam geneetiline mitmekesisus ning samuti ohustab selliseid populatsioone rohkem geenitriiv (Bartlewicz *et al.*, 2015). Töös analüüsiti ka populatsiooni suuruse mõju geneetilisele mitmekesisusele. Statistiliselt olulised erinevused olid 100-500 isendiga ja üle 1000 isendiga populatsioonide vahel, kuid üllatuslikult oli suuremates populatsioonides geneetiline mitmekesisus hoopis madalam. Reisch *et al.* (2017) tehtud uurimuse tulemustes leiti samuti, et sõltumata lubjarikka rohumaala drastilisest vähenemisest, ei olnud populatsiooni suurusel geneetilisele mitmekesisusele olulist mõju. Selline tulemus võis tuleneda ka sellest, et kõik > 1000 isendiga populatsioonid pärinesid Koguva proovialalt, kus geneetiline mitmekesisus oli üldiselt madalam, samas kui 100-500 isendiga populatsioonid asusid kõrgema geneetilise mitmekesisusega Lepiku alal. Populatsioonisuuruse mõju geneetilisele mitmekesisusele kummalgi alal eraldi polnud võimalik analüüsida, kuna valimi suurus erinevate suurusklasside kaupa ei oleks olnud piisav.

4.2. Maastikugeneetiline paariviisiline võrdlus

Maastikugeneetilised uuringud võimaldavad uurida maastikuelementide mõju taimede leviste ja õietolmu levikule populatsioonide vahel (Favre-Bac *et al.*, 2016). Lehmail *et al.* (2020) tööst leiti, et roosaka varjulille (*Asperula cynanchica* L.), ümarlehise kelluka (*Campanula rotundifolia* L.) ja aaslina (*Linum catharticum* L.) populatsioonide geneetilist mitmekesisust soodustas kõige enam geenivool, mida omakorda mõjutas kaasaegne asurkonda ümbritsevate maastike struktuur ja poollooduslike rohumaade hooldamine. Antud töös uuritud Koguva prooviala loopealsed on võrdlemisi sidusad. Seal tehtud maastikugeneetilise analüüsi tulemus näitas, et sidusatel maastikel on geenivool tugevam üksteise lähedal paiknevate ning nõrgem kaugemal asetsevate populatsioonide vahel. Koguva proovialal vähenes geenivool kõige enam geograafilise kaugus kasvades ja põõsastiku osakaalu suurenedes. Et hoida niidutaimede populatsioonide vahelist geenivoolu, tuleks piirkonnas jätkata majandamisega, kuna regulaarne karjatamine ja niitmine toetab erinevate populatsioonide vahelise geneetilise info vahetust (Lehmail *et al.*, 2020; Plue *et al.*, 2019; Rico *et al.*, 2014).

Taimepopulatsioonide eraldatus distantse tõttu, erinevad maastikuelemendid ja populatsioonidevaheline vähenes geenivool suurendab geenitriivi mõju populatsioonidele, mistõttu võivad üksteisest kaugemal asuvad populatsioonid muutuda geneetiliselt väga erinevaks (Holderegger *et al.*, 2010; Wright, 1943). Lepiku prooviala populatsioonide vahelise geneetilise erinevuse analüüs näitas, et väiksem populatsioonidevaheline geograafiline kaugus viitab hoopiski suuremale geneetilisele erinevusele populatsioonide vahel ehk geenivool on madalam. Geograafilisel distantil oli ka ainukesena statistiliselt oluline mõju Lepiku prooviala populatsioonidevahelisele geenivoolule. Selline tulemus võib olla põhjustatud sellest, et Lepiku ala on mitmekesisema maastikuga ja sealne muld varieeruvam. Sexton *et al.* (2014) töös mainiti, et geenivoolu tugevus sõltub palju ka näiteks populatsioonide sarnasest mikroklimatest ja mullatüübist, tänu millele on taimepopulatsioonidel sarnane õitsemisaeg. Nii võivad Lepiku aladel sünkroonis õitseda just kaugemal asuvad populatsioonide isendid ning seetõttu võib ka nende vaheline geneetiline sarnasus olla suurem.

Üks võimalikke põhjuseid võib olla ka see, et killustunud maastikus levivad niiduliigid alternatiivsetes elupaikades nagu näiteks teeservades (nagu ilmnes mitme Lepiku populatsiooni puhul), kuhu võivad levida erinevate sõiduvahendite või ka niidukite abil

seemned, mis pärinevad ruumiliselt kaugematelt niidulaikudelt. Mitmed uuringud on leidnud, et teeservad kujutavad endast taimede refuugiume ning on liikidele võimalikuks leviku koridoriks (Arenas *et al.*, 2017; Holderegger & Di Giulio, 2010). Niisiis võivad Lepiku prooviala ajaloolised hariliku nurmenuku populatsioonid olla segunenud ruumiliselt kaugematelt aladelt tulnud hariliku nurmenuku populatsioonidega.

4.3. Järeldused

Töös tehtud analüüsid näitasid, et praegu säilinud loopealsetel kasvavate hariliku nurmenukkude geneetiline mitmekesisus on veel üpriski kõrge ning ka drastiliselt muutunud maastikus olevad populatsioonid ei ole geneetiliselt vaesunud. Siiski tuleks tähelepanu juhtida ka näiteks sellele, et sidus Koguva prooviala oli madalama geneetilise mitmekesisusega kui killustunud Lepiku prooviala. Kuigi üldiselt annavad töös leitud tulemused lootust, et populatsioonid võiksid suuta raskete tingimustega kohaneda, on tulemuste hulgas ka vihjeid ajaliste viivete kohta geneetilises mitmekesisuses. Üheks selliseks näiteks on madalam polümorfsete lookuste protsent Lepiku alal, kus muud geneetilise mitmekesisuse indeksid on kõrgemad.

Maastikugeneetilise analüüsi tulemustest selgus, et populatsioonidevaheline geograafiline distant ja põõsastik on geenivoolule olulise mõjuga. Hariliku nurmenuku ja ka paljude teiste taimede puhul on põhiliselt just tolmeldajad need, kes taimede geneetilist materjali populatsioonide vahel edasi kannavad. Selleks, et tolmeldajad saaksid tagada piisava geenivoolu oleks hea, kui populatsioonid paikneksid pigem lähestikku ja nende vahel ei oleks suuri barjääre.

Looduskaitseliselt on erinevad pärandkooslused väga olulised, nende näol on tegemist mitmekesisete ja liigirikaste aladega, mis pakuvad elupaika väga paljudele erinevatele liikidele. Kahjuks on suur hulk nendest erinevatel põhjustel hävinud. Pärandkooslustes säilinud elurikkuse säilitamise puhul on esmatähtis peatada veel alles olevate koosluste pindala ja sidususe vähendamist. Rohkem tuleks panna rõhku veel säilinud alade hoidmisele ja hooldamisele ning võimaluse korral tegutseda ka kehvas seisukorras alade taastamisega.

Kokkuvõte

Inimtegevusest tulenev looduslike elupaikade pindala vähenemine ja killustumine on üheks peamiseks elurikkuse kahanemise põhjuseks. Võõrtolmlevate taimeliikide puhul on lisaks elupaikade kaole suureks ohuks ka tolmeldavate putukate hulga vähenemine. Tolmeldajate vähesus ja elupaikade kaudu mõjub negatiivselt taimede geneetilisele mitmekesisusele, kusjuures laialdase levikuga ja rohkelt esinevad taimed võivad geneetilise mitmekesisuse vähenemisest olla samaväärselt või isegi rohkem mõjutatud kui haruldased liigid. Kõrge geneetilise mitmekesisusega isenditega populatsioonidel on suurem tõenäosus kohaneda erinevate keskkonnamuutustega. Geneetilise mitmekesisuse uuringud ja nendest saadud tulemuste rakendamine on taastamistöde puhul suure tähtsusega, sest tänu sellele on võimalik leida populatsioone, mis oleks piisava geneetilise mitmekesisusega, et keskkonnamuutustega kohaneda ja edukalt paljuneda.

Maastikugeneetika aitab luua ülevaadet sellest millised maastikuelemendid soodustavad või takistavad taimede geneetilise materjali liikumist erinevate populatsioonide vahel. Maastikugeneetilisi meetode kasutades saab aimu sellest, kuidas erinevad maastikum muutused võivad mõjutada populatsioonide geneetilist mitmekesisust.

Käesolev töö keskendus geneetilise mitmekesisuse uurimisele poollooduslikel rohumaadel kasvavate hariliku nurmenuku populatsioonides, et mõista, kuidas on maakasutuse muutused mõjutanud nendel aladel asuvate populatsioonide geneetilist mitmekesisust. Ootamatult leiti, et rohkem killustunud Lepiku proovialal populatsioonide geneetiline mitmekesisus oli kõrgem kui sidusal Koguva proovialal leiduvates populatsioonides. Leiti ka seos populatsioonide suuruse ja geneetilise mitmekesisuse vahel, keskmise suurusega populatsioonides oli kõrgem geneetiline mitmekesisus kui suurtes populatsioonides.

Maastikugeneetilises analüüsis leiti, et Koguva proovialal mõjus geenivoolu pärssivalt suurem populatsioonidevahelise põõsastiku osakaal. Mida suurem oli populatsioonidevaheline geograafiline kaugus, seda erinevamad olid populatsioonid geneetiliselt. Selline tulemus oli igati ootuspärane, arvestades seda, et harilik nurmenukk on võõrtolmlev liik ning geenivoolu intensiivsus on seotud tolmeldajate lennudistantsiga. Lepiku proovialal ei olnud ühelgi maastikuelemendil statistiliselt olulist mõju geenivoolule. Seal

leiti, et mida geograafiliselt kaugemal populatsioonid üksteisest paiknesid, seda sarnasemad nad geneetiliselt üksteisele olid. Selline tulemus oli ootamatu. Võimalikeks põhjusteks võib olla uute populatsioonide segunemine ajalooliste populatsioonidega tänu teeservade hooldusele või prooviaala populatsioonide erinev mikrokliima, mistõttu erineb populatsioonide õitsemisaeg.

Poollooduslikud rohumaad pakuvad elupaika väga paljudele erinevatele liikidele. Kaasaaegsete maaharimisvõtete tõttu on paljud sellised elupaigad kadumas ja sellega koos ka erinevad liigid. Maastikugeneetilised ja geneetilise mitmekesisuse uuringud aitavad paremini planeerida looduskaitse tegevust ja taastamistöid, tänu millele on sellistel poollooduslikel kooslustel tehtud taastamistööl suurem potentsiaal olla elurikkuse säilimise mõttes edukas.

Summary

The reduction and fragmentation of natural habitats due to human activities is one of the main reasons for the decrease in biodiversity. In the case of cross-pollinated plant species, in addition to the loss of habitats, the decrease in the number of pollinating insects is also a major threat to the populations. A lack of pollinators and loss of habitats negatively affects plant genetic diversity. Widespread and abundant plant species are likely to be equally or even more affected by the reduction of genetic diversity than rare species. Populations with high genetic diversity are more likely to adapt to various environmental changes. Studies of genetic diversity and the application of the results obtained from them are of great importance in restoration work, as this makes it possible to find populations with sufficient genetic diversity, to adapt to environmental changes and to reproduce successfully.

Landscape genetics helps create an overview of which landscape elements increase or decrease the movement of plant genetic material between different populations. Using landscape genetic methods, one can get an idea of how different landscape changes can affect the genetic diversity of populations.

The present thesis focused on the study of genetic diversity in populations of *Primula veris* growing in semi-natural grasslands to understand how land use changes have affected the genetic diversity of populations in these areas. Unexpectedly, it was found that the genetic diversity of the populations in the more fragmented Lepiku sample area was higher than in the populations in the well connected Koguva sample area. A relationship between population size and genetic diversity was also found, with medium-sized populations having higher genetic diversity than the larger populations.

In the landscape genetic analysis, it was found that in the sample area of Koguva, the greater proportion of shrubs between populations decreased the gene flow. The longer the geographic distance between the populations, the more genetically different the populations were. Such a result was fully expected considering that *Primula veris* is a cross-pollinating species and the intensity of gene flow is related to the flight distance of the pollinators. In the Lepiku sample area, none of the landscape elements had a statistically significant effect on gene flow. It was found that the more geographically distant the populations were from each other, the more genetically similar they were to each other. Such a result was unexpected. Possible reasons could be the mixing of new populations with historical populations due to roadside

maintenance or the different microclimate of the sampled populations, resulting in different flowering times of the populations.

Semi-natural grasslands provide a habitat for many different species. Due to modern farming techniques, many such habitats are disappearing and with it different species. Landscape genetic and genetic diversity studies help to better plan nature conservation activities and restoration works, thanks to which the restoration works carried out in such semi-natural communities have a greater potential to be successful in terms of preserving biodiversity.

Tänuavaldused

Soovin südamest tänada oma juhendaid Iris Reinulat ja Tsipe Aavikut, tänu kellele oli lõputöö kirjutamine üllatavalt meeldiv protsess. Nende positiivne ja soe suhtumine, head nõuanded ning abivalmidus olid väga suureks toeks lõputöö valmimisel. Lisaks sooviksin tänada Marge Thetloffit, Liis Kasari-Toussainti ja Ene Kooki lõputöös kasutatud andmete kogumisele eest, Sabrina Trägerit ning Genetic Diversity Center-it Sveitsis laboritöö ja bioinformaatilise analüüsi eest ning Hanna-Triinu Järvineni kaardiandmete digimise ja korrastamise eest. Samuti ei saa tänamata jätta ka lähedasi, kes olid minu jaoks alati olemas.

Kasutatud kirjandus

- Aavik, T., & Helm, A. (2018). Restoration of plant species and genetic diversity depends on landscape-scale dispersal. *Restoration Ecology*, 26(S2), S92–S102. <https://doi.org/10.1111/rec.12634>
- Aavik, T., Holderegger, R., Edwards, P. J., & Billeter, R. (2013). Patterns of contemporary gene flow suggest low functional connectivity of grasslands in a fragmented agricultural landscape. *Journal of Applied Ecology*, 50(2), 395–403. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12053>
- Aavik, T., Thetloff, M., Träger, S., Hernández-Agramonte, I. M., Reinula, I., & Pärtel, M. (2019). Delayed and immediate effects of habitat loss on the genetic diversity of the grassland plant *Trifolium montanum*. *Biodiversity and Conservation*, 28(12), 3299–3319. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01822-8>
- 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(24), 5177–5188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03971.x>
- Arenas, J. M., Escudero, A., Mola, I., & Casado, M. A. (2017). Roadsides: An opportunity for biodiversity conservation. *Applied Vegetation Science*, 20(4), 527–537. <https://doi.org/10.1111/avsc.12328>
- Bálint, M., Domisch, S., Engelhardt, C. H. M., Haase, P., Lehrian, S., Sauer, J., Theissinger, K., Pauls, S. U., & Nowak, C. (2011). Cryptic biodiversity loss linked to global climate change. *Nature Climate Change*, 1(6), 313–318. <https://doi.org/10.1038/nclimate1191>
- Barnosky, A. D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G. O. U., Swartz, B., Quental, T. B., Marshall, C., McGuire, J. L., Lindsey, E. L., Maguire, K. C., Mersey, B., & Ferrer, E. A. (2011). Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, 471(7336), Article 7336. <https://doi.org/10.1038/nature09678>
- Bartlewicz, J., Vandepitte, K., Jacquemyn, H., & Honnay, O. (2015). Population genetic diversity of the clonal self-incompatible herbaceous plant *Linaria vulgaris* along an urbanization gradient. *Biological Journal of the Linnean Society*, 116(3), 603–613. <https://doi.org/10.1111/bij.12602>

- Benítez-Malvido, J., & Martínez-Ramos, M. (2003). Impact of Forest Fragmentation on Understory Plant Species Richness in Amazonia. *Conservation Biology*, *17*(2), 389–400. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2003.01120.x>
- Brys, R., & Jacquemyn, H. (2009). Biological Flora of the British Isles: *Primula veris* L. *Journal of Ecology*, *97*(3), 581–600. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01495.x>
- Conner, J. K., & Hartl, D. L. (2004). *A primer of ecological genetics* (Vol. 425). Sinauer Associates Sunderland, MA.
- Cousins, S. A. O., Auffret, A. G., Lindgren, J., & Tränk, L. (2015). Regional-scale land-cover change during the 20th century and its consequences for biodiversity. *AMBIO*, *44*(1), 17–27. <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0585-9>
- Cruzan, M. B., & Hendrickson, E. C. (2020). Landscape Genetics of Plants: Challenges and Opportunities. *Plant Communications*, *1*(6), 100100. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100100>
- DeWoody, J. A., Harder, A. M., Mathur, S., & Willoughby, J. R. (2021). The long-standing significance of genetic diversity in conservation. *Molecular Ecology*, *30*(17), 4147–4154. <https://doi.org/10.1111/mec.16051>
- DiLeo, M. F., & Wagner, H. H. (2016). A Landscape Ecologist’s Agenda for Landscape Genetics. *Current Landscape Ecology Reports*, *1*(3), 115–126. <https://doi.org/10.1007/s40823-016-0013-x>
- Ehrlén, J., & Lehtilä, K. (2002). How perennial are perennial plants? *Oikos*, *98*(2), 308–322. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.980212.x>
- Ehrlich, P. R., & Raven, P. H. (1969). Differentiation of Populations: Gene flow seems to be less important in speciation than the neo-Darwinians thought. *Science*, *165*(3899), 1228–1232. <https://doi.org/10.1126/science.165.3899.1228>
- Ellstrand, N. C., & Elam, D. R. (1993). Population Genetic Consequences of Small Population Size: Implications for Plant Conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *24*, 217–242. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.001245>
- Epps, C. W., & Keyghobadi, N. (2015). Landscape genetics in a changing world: Disentangling historical and contemporary influences and inferring change. *Molecular Ecology*, *24*(24), 6021–6040. <https://doi.org/10.1111/mec.13454>
- Eriksson, O., Cousins, S. A. O., & Bruun, H. H. (2002). Land-use history and fragmentation of traditionally managed grasslands in Scandinavia. *Journal of Vegetation Science*, *13*(5), 743–748. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2002.tb02102.x>

- Favre-Bac, L., Mony, C., Ernoult, A., Burel, F., & Arnaud, J.-F. (2016). Ditch network sustains functional connectivity and influences patterns of gene flow in an intensive agricultural landscape. *Heredity*, *116*(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.90>
- Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2004). *A primer of conservation genetics*. Cambridge University Press.
- Galloway, L. F., Etterson, J. R., & Hamrick, J. L. (2003). Outcrossing rate and inbreeding depression in the herbaceous autotetraploid, *Campanula americana*. *Heredity*, *90*(4), Article 4. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800242>
- Ganders, F. R. (1979). The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany*, *17*(4), 607–635. <https://doi.org/10.1080/0028825X.1979.10432574>
- Gu, W., Heikkilä, R., & Hanski, I. (2002). Estimating the consequences of habitat fragmentation on extinction risk in dynamic landscapes. *Landscape Ecology*, *17*(8), 699–710. <https://doi.org/10.1023/A:1022993317717>
- Haddad, N. M., Brudvig, L. A., Clobert, J., Davies, K. F., Gonzalez, A., Holt, R. D., Lovejoy, T. E., Sexton, J. O., Austin, M. P., Collins, C. D., Cook, W. M., Damschen, E. I., Ewers, R. M., Foster, B. L., Jenkins, C. N., King, A. J., Laurance, W. F., Levey, D. J., Margules, C. R., ... Townshend, J. R. (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*, *1*(2), e1500052. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500052>
- Haddad, N. M., Gonzalez, A., Brudvig, L. A., Burt, M. A., Levey, D. J., & Damschen, E. I. (2017). Experimental evidence does not support the Habitat Amount Hypothesis. *Ecography*, *40*(1), 48–55. <https://doi.org/10.1111/ecog.02535>
- Hadfield, J. D. (2010). MCMC Methods for Multi-Response Generalized Linear Mixed Models: The MCMCglmm R Package. *Journal of Statistical Software*, *33*, 1–22. <https://doi.org/10.18637/jss.v033.i02>
- Heinaru, A. (2012). Geneetika. Õpik kõrgkoolile. Tartu Ülikooli Kirjastus.
- Helm, A. (2011). Eesti loopealsed ja kadastikud.
- Helm, A., Hanski, I., & Partel, M. (2006). Slow response of plant species richness to habitat loss and fragmentation. *Ecology Letters*, *0*(0), 051109031307003. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00841.x>
- Helm, A., Oja, T., Saar, L., Takkis, K., Talve, T., & Pärtel, M. (2009). Human influence lowers plant genetic diversity in communities with extinction debt. *Journal of*

- Ecology*, 97(6), 1329–1336. Scopus. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01572.x>
- Holderegger, R., Buehler, D., Gugerli, F., & Manel, S. (2010). Landscape genetics of plants. *Trends in Plant Science*, 15(12), 675–683. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.002>
- Holderegger, R., & Di Giulio, M. (2010). The genetic effects of roads: A review of empirical evidence. *Basic and Applied Ecology*, 11(6), 522–531. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.06.006>
- Holderegger, R., Kamm, U., & Gugerli, F. (2006). Adaptive vs. neutral genetic diversity: Implications for landscape genetics. *Landscape Ecology*, 21(6), 797–807. <https://doi.org/10.1007/s10980-005-5245-9>
- Honnay, O., & Jacquemyn, H. (2007). Susceptibility of Common and Rare Plant Species to the Genetic Consequences of Habitat Fragmentation. *Conservation Biology*, 21(3), 823–831. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00646.x>
- Jiménez-Alfaro, B., García-Calvo, L., García, P., & Acebes, J. L. (2016). Anticipating extinctions of glacial relict populations in mountain refugia. *Biological Conservation*, 201, 243–251. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.07.015>
- Kimura, M. (1983). *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press.
- Krauss, J., Klein, A.-M., Steffan-Dewenter, I., & Tschardt, T. (2004). Effects of habitat area, isolation, and landscape diversity on plant species richness of calcareous grasslands. *Biodiversity & Conservation*, 13(8), 1427–1439. <https://doi.org/10.1023/B:BIOC.0000021323.18165.58>
- Kukk, T. (2022). Eesti taimede kukeaabits. Varrak.
- Laasimer, L. (1965). Eesti NSV taimkate. Valgus.
- Lehmair, T. A., Pagel, E., Poschlod, P., & Reisch, C. (2020). Surrounding landscape structures, rather than habitat age, drive genetic variation of typical calcareous grassland plant species. *Landscape Ecology*, 35(12), 2881–2893. <https://doi.org/10.1007/s10980-020-01120-7>
- Leimu, R., Kloss, L., & Fischer, M. (2008). Effects of experimental inbreeding on herbivore resistance and plant fitness: The role of history of inbreeding, herbivory and abiotic factors. *Ecology Letters*, 11(10), 1101–1110. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01222.x>

- 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*(5), 942–952. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01150.x>
- Manel, S., Schwartz, M. K., Luikart, G., & Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, *18*(4), 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00008-9)
- Mendes, S. B., Timóteo, S., Loureiro, J., & Castro, S. (2022). The impact of habitat loss on pollination services for a threatened dune endemic plant. *Oecologia*, *198*(1), 279–293. <https://doi.org/10.1007/s00442-021-05070-y>
- Münzbergová, Z., Cousins, S. a. O., Herben, T., Plačková, I., Mildén, M., & Ehrlén, J. (2013). Historical habitat connectivity affects current genetic structure in a grassland species. *Plant Biology*, *15*(1), 195–202. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00601.x>
- Nic Lughadha, E., Bachman, S. P., Leão, T. C. C., Forest, F., Halley, J. M., Moat, J., Acedo, C., Bacon, K. L., Brewer, R. F. A., Gâteblé, G., Gonçalves, S. C., Govaerts, R., Hollingsworth, P. M., Krisai-Greilhuber, I., de Lirio, E. J., Moore, P. G. P., Negrão, R., Onana, J. M., Rajaovelona, L. R., ... Walker, B. E. (2020). Extinction risk and threats to plants and fungi. *PLANTS, PEOPLE, PLANET*, *2*(5), 389–408. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10146>
- Pärtel, M., Kalamees, R., Zobel, M., & Rosén, E. (1999). Alvar grasslands in Estonia: Variation in species composition and community structure. *Journal of Vegetation Science*, *10*(4), 561–570. <https://doi.org/10.2307/3237190>
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAIEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, *28*(19), 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Peterson, B. K., Weber, J. N., Kay, E. H., Fisher, H. S., & Hoekstra, H. E. (2012). Double Digest RADseq: An Inexpensive Method for De Novo SNP Discovery and Genotyping in Model and Non-Model Species. *PLOS ONE*, *7*(5), e37135. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037135>
- Picó, F. X., & Van Groenendael, J. (2007). Large-scale plant conservation in European semi-natural grasslands: A population genetic perspective. *Diversity and Distributions*, *13*(6), 920–926. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00349.x>

- Plue, J., Aavik, T., & Cousins, S. A. O. (2019). Grazing networks promote plant functional connectivity among isolated grassland communities. *Diversity and Distributions*, 25(1), 102–115. <https://doi.org/10.1111/ddi.12842>
- QGIS Development Team (2023). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project.
- Raatikainen, K. M., Heikkinen, R. K., & Luoto, M. (2009). Relative importance of habitat area, connectivity, management and local factors for vascular plants: Spring ephemerals in boreal semi-natural grasslands. *Biodiversity and Conservation*, 18(4), 1067–1085. <https://doi.org/10.1007/s10531-008-9462-9>
- R Development Core Team. 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Reinula, I., Träger, S., Hernández-Agramonte, I. M., Helm, A., & Aavik, T. (2021). Landscape genetic analysis suggests stronger effects of past than current landscape structure on genetic patterns of *Primula veris*. *Diversity and Distributions*, 27(9), 1648–1662. <https://doi.org/10.1111/ddi.13357>
- Reisch, C., Schmidkonz, S., Meier, K., Schöpplein, Q., Meyer, C., Hums, C., Putz, C., & Schmid, C. (2017). Genetic diversity of calcareous grassland plant species depends on historical landscape configuration. *BMC Ecology*, 17(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12898-017-0129-9>
- Rico, Y., Holderegger, R., Boehmer, H. J., & Wagner, H. H. (2014). Directed dispersal by rotational shepherding supports landscape genetic connectivity in a calcareous grassland plant. *Molecular Ecology*, 23(4), 832–842. <https://doi.org/10.1111/mec.12639>
- Rodger, J. G., Bennett, J. M., Razanajatovo, M., Knight, T. M., van Kleunen, M., Ashman, T.-L., Steets, J. A., Hui, C., Arceo-Gómez, G., Burd, M., Burkle, L. A., Burns, J. H., Durka, W., Freitas, L., Kemp, J. E., Li, J., Pauw, A., Vamosi, J. C., Wolowski, M., ... Ellis, A. G. (2021). Widespread vulnerability of flowering plant seed production to pollinator declines. *Science Advances*, 7(42), eabd3524. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd3524>
- Rousset, F. (2008). genepop'007: A complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1), 103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- RStudio Team (2022). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA

- Scanes, C. G. (2018). Chapter 19 - Human Activity and Habitat Loss: Destruction, Fragmentation, and Degradation. In C. G. Scanes & S. R. Toukhsati (Eds.), *Animals and Human Society* (pp. 451–482). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805247-1.00026-5>
- Sheridan, P. M., & Karowe, D. N. (2000). Inbreeding, outbreeding, and heterosis in the yellow pitcher plant, *Sarracenia flava* (Sarraceniaceae), in Virginia. *American Journal of Botany*, 87(11), 1628–1633. <https://doi.org/10.2307/2656739>
- Spielman, D., Brook, B. W., Briscoe, D. A., & Frankham, R. (2004). Does Inbreeding and Loss of Genetic Diversity Decrease Disease Resistance? *Conservation Genetics*, 5(4), 439–448. <https://doi.org/10.1023/B:COGE.0000041030.76598.cd>
- Storfer, A., Murphy, M. A., Evans, J. S., Goldberg, C. S., Robinson, S., Spear, S. F., Dezzani, R., Delmelle, E., Vierling, L., & Waits, L. P. (2007). Putting the ‘landscape’ in landscape genetics. *Heredity*, 98(3), 128–142. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800917>
- Tilman, D., May, R., Lehman, C., & Nowak, M. (1994). Habitat Destruction and the Extinction Debt. *Nature*, 371(6492), 65–66. <https://doi.org/10.1038/371065a0>
- Träger, S., Rellstab, C., Reinula, I., Zemp, N., Helm, A., Holderegger, R., & Aavik, T. (2021). Genetic diversity at putatively adaptive but not neutral loci in *Primula veris* responds to recent habitat change in semi-natural grasslands. *bioRxiv*, 2021-05.
- Wagner, H. H., & Fortin, M.-J. (2013). A conceptual framework for the spatial analysis of landscape genetic data. *Conservation Genetics*, 14(2), 253–261. <https://doi.org/10.1007/s10592-012-0391-5>
- Westphal, C., Steffan-Dewenter, I., & Tschardtke, T. (2006). Foraging trip duration of bumblebees in relation to landscape-wide resource availability. *Ecological Entomology*, 31(4), 389–394. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2006.00801.x>
- Whitlock, M. C., & McCauley, D. E. (1999). Indirect measures of gene flow and migration: $F_{ST} \approx 1/(4Nm+1)$. *Heredity*, 82(2), 117–125. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.1999.00496.x>
- Wright, S. (1943). Isolation by Distance. *Genetics*, 28(2), 114–138.

Internetiallikad

IUCN. 2022. The IUCN Red List of Threatened Species. Versioon 2022-2.

<https://www.iucnredlist.org>. Kasutatud 13.05.2023.

Maa-amet. Eesti põhikaart 1:10000. Kasutatud 17.04.2023

<https://geoportaal.maaamet.ee/est/Ruumiandmed/Topokaardid-ja->

[aluskaardid/Eestihikaart-1-10000-p30.html](https://geoaluskaardid/Eestihikaart-1-10000-p30.html)<https://geoaluskaardid/Eesti-pohikaart-1->

[10000-p30.html](https://geoaluskaardid/Eesti-pohikaart-1-10000-p30.html)

Lisad

Lisa 1. Definiitsioonid

Definiitsioonid pärinevad geneetika sõnastikust ja on kohandatud käesoleva töö konteksti (Heinaru, 2012). Sõnad on tekstis esmakordsel mainimisel tähistatud *-ga.

Alleel - üks kahest või mitmest alternatiivsest geenivariandist, mis asuvad populatsiooni isendite homoloogiliste kromosoomide samas lookuses ja toimivad sama tunnuse kujundamisel.

Geenitriiv - alleelisageduste muutus ristuva populatsiooni põlvkondades juhuslike kõrvalekallete tõttu. Geenitriivi suhteline roll alleelide sageduste muutustes väikestes populatsioonides on enamasti suurem kui suurema arvukusega populatsioonides.

Geenivool - geenide levik ühest populatsioonist teise isendite või nende osade migratsioonil. Sellega kaasneb tavaliselt alleelisageduste muutus, mõnikord uute (mutantsete) alleelide sisenemine genofondi.

Heterosügootsus - diploidse või polüploidse indiviidi genotüübi seisund kus homoloogiliste kromosoomide samas lookuses asuvad erinevad alleelid.

Inbriiding e lähiristumine - kõrge sugulusega isendite ristumine.

Inbriidingu koefitsient (F_{IS}) - tõenäosus, et isendi kaks alleeli on päritud ühiselt eellaselt ja on identsed.

Kohasus - kindla genotüübiga isendite edukate järglaste arv, võrreldes ja väljendades suhtena populatsiooni keskmisesse või populatsiooni muude genotüüpidega isendite järglaskonda.

Lookus - kindel koht kromosoomis, kus asub geen.

Polümorfism - kahe või enama geneetilise variandi olemasolu populatsiooni isendite hulgas.

Lisa 2. Erinevate tegurite mõju hariliku nurmenuku geneetilisele erinevusele Koguvast parimate mudelite põhjal. Parimad mudelid on esitatud hälbe infokriteeriumi (DIC) põhjal. I-95% - 95% usaldusintervalli alampiir ja u-95% - usaldusintervalli ülempiir. Tumedas trükis pMCMC väärtused on statistiliselt olulised.

	Efekti suurus	l-95% CI	u-95% CI	pMCMC
A1 $F_{ST} \sim \text{dist}$				
Geograafiline distant	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,013
A4 $F_{ST} \sim \text{dist} + \text{põõsastik}$				
Geograafiline distant	< 0,001	< -0,001	< 0,001	0,064
Põõsastik	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,057

Lisa 3. Erinevate tegurite mõju hariliku nurmenuku geneetilisele erinevusele Lepikul parimate mudelite põhjal. Parimad mudelid on esitatud hälbe infokriteeriumi (DIC) põhjal. I-95% - 95% usaldusintervalli alampiir ja u-95% - usaldusintervalli ülempiir. Tumedas trükis pMCMC väärtused on statistiliselt olulised.

	Efekti suurus	l-95% CI	u-95% CI	pMCMC
B1 $F_{ST} \sim \text{dist}$				
Geograafiline distant	< -0,001	< -0,001	< -0,001	0,003
B2 $F_{ST} \sim \text{dist} + \text{poollooduslik rohumaa}$				
Geograafiline distant	< -0,001	< -0,001	< -0,001	0,002
Poollooduslik rohumaa	0,001	-0,005	0,002	0,424
B3 $F_{ST} \sim \text{dist} + \text{mets}$				
Geograafiline distant	< -0,001	< -0,001	< -0,001	0,013
Mets	< -0,001	< -0,001	< 0,001	0,694
B4 $F_{ST} \sim \text{dist} + \text{põõsastik}$				
Geograafiline distant	< -0,001	< -0,001	< -0,001	0,003
Põõsastik	< -0,001	< -0,001	< 0,001	0,339
B5 $F_{ST} \sim \text{dist} + \text{haritav maa}$				
Geograafiline distant	< -0,001	< -0,001	< -0,001	0,050
Haritav maa	< 0,001	< -0,001	< 0,001	0,234
B10 $F_{ST} \sim \text{dist} + \text{haritav maa} + \text{põõsastik}$				
Geograafiline distant	< -0,001	< -0,001	< -0,001	0,050
Haritav maa	< 0,001	< -0,001	< 0,001	0,331
Põõsastik	< -0,001	< -0,001	< 0,001	0,489

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Vete-Mari Kuningas,

Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose

„Maastiku struktuuri mõju hariliku nurmenuku (*Primula veris*) populatsioonide geneetilisele mitmekesisusele ja geenivoolule“, mille juhendajad on Iris Reinula ja Tsipe Aavik,

reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Vete-Mari Kuningas

25.05.2023