

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

Kristin Pille

**GENEETILISTE UURINGUTE TÄHTSUS
TAIMEPOPULATSIOONIDE KAITSEL JA TAASTAMISEL**

Bakalaureusetöö
ökoloogia ning elustiku kaitse
12 EAP

Juhendaja: Dr. Tsipe Aavik

Tartu 2018

Infoleht

Geneetiliste uuringute tähtsus taimepopulatsioonide kaitsel ja taastamisel

Bakalaureusetöö eesmärgiks on anda erinevate näidete varal ülevaade geneetilise mitmekesisuse rollist taimepopulatsioonide kaitses ja taastamises ning sellest, kuidas geneetilisi uuringuid kaitse- ja taastamistöode planeerimiseks ja hindamiseks rakendada. Käsitletakse kolme suuremat teemat, milleks on (1) kasvukohtade killustumise mõju hindamine geneetiliste meetoditega ning sellest tulenevalt optimaalsete kaitsemeetmete planeerimine ja hindamine, (2) taimepopulatsioonide kohastumisvõime hindamine seoses kliima- ja muude keskkonnamuutustega ning (3) taksonoomia ja hübriidiseerumisega seotud probleemide lahendamine. Töös käsitletud uurimused kinnitavad, et geneetilisi aspekte tuleb taimepopulatsioonide kaitsel ja taastamisel arvesse võtta, sest see aitab ennetada suuremaid ebaõnnestumisi ning annab aluse paremaks erinevate ökoloogiliste protsesside mõistmiseks.

Märksõnad: geneetiline mitmekesisus, populatsioonigeneetika, taastamine, kliimamuutused, hübriidiseerumine, kasvukohtade killustumine, taksonoomia

CERCS teadusalade koodid: B225 Taimegeneetika, B270 Taimeökoloogia

The importance of genetic diversity in plant population restoration and conservation

The purpose of this bachelor thesis is to give an overview about the importance of genetic diversity in restoring and conserving plant populations and about the use of genetic tools in planning plant population conservation and evaluation of restoration and conservation methods. The thesis focuses on three following topics: (1) the use of genetic tools for assessing the impact of habitat fragmentation and for planning and evaluating related conservation methods, (2) the use of genetic tools in the evaluation of plant population adaptability regarding climate and other environment changes and, (3) application of genetic tools in determining uncertainties in taxonomy and hybridisations. The studies confirm that genetic aspects must be considered in plant population restoration and conservation – it will help to avoid major failures and provide opportunities to enhance understanding ecological processes involved in restoration and conservation.

Keywords: genetic diversity, population genetics, restoration, climate change, hybridization, habitat fragmentation, taxonomy

CERCS reasearch field codes: B225 Plant genetics, B270 Plant ecology

Sisukord

Infoleht	2
Sissejuhatus	5
Töös enim kasutatavate mõistete sõnastik	6
1. Kasvukohtade pindala kaost ja killustatusest põhjustatud probleemide tuvastamine	7
1.1. Populatsioonisisese geneetilise mitmekesisuse hindamine	7
1.1.1. Geenitriiv	8
1.1.2. Lähiristumine	10
1.1.3. Geneetiline rikastamine ning kaugristumissurutis	11
1.2. Populatsioonidevahelise geenivoolu tuvastamine	12
1.3. Taimetunnuste mõju kasvukohtade killustumise ja geneetilise mitmekesisuse vahelistele seostele	15
1.3.1. Taimeliikide haruldus	15
1.3.2. Paljunemisviis	16
1.3.3. Taimede ja seemnepanga eluiga	16
2. Taimepopulatsioonide kohastumisvõime hindamine	18
2.1. <i>In situ</i> kohastumisvõime	19
2.2. Taimede <i>ex situ</i> säilitamise ja paljundamise mõju kohastumisvõimele	21
3. Taksonoomiliste taksonite ja hübriidiseerumise tuvastamine geneetiliste meetodite abil	23
3.1. Hübriidiseerumise tuvastamine	23
3.2. Geneetiliste meetodite kasutamine kaitset vajavate taksonite tuvastamisel	25
4. Looduskaitsegeneetikas enim kasutatavad meetodid	27
4.1. Looduskaitsegeneetilistes uuringutes sagedamini kasutatavad geneetilised markerid..	28
4.2. Geneetilise analüüsi meetodid	30
Kokkuvõte	33
Summary	35
Tänuavaldused	37
Kasutatud kirjandus	38
Lisa 1. Ülevaattetabel taimede looduskaitsegeneetilistest uuringutest Eestis	45

Sissejuhatus

Kasvukohtade killustumine, võõrliikide invasioon ja muutuvad keskkonnatingimused on peamised elurikkust ohustavad tegurid. Üha enam uurimusi näitab, et ohustatud pole vaid haruldused, vaid ka seni tavaliseks peetud liigid. Seetõttu on taastamis- ja kaitsetegevusel aina olulisem ja vastutusrikkam roll elurikkuse püsijäämisel. Lisaks tuleks looduskaitsetes tavapäraselt eesmärgiks seatud liigilisele mitmekesisusele enam tähelepanu pöörata populatsioonide geneetilise mitmekesisuse taastamisele ja hoidmisele, sest geneetiline mitmekesisus aitab taimepopulatsioonidel toime tulla muutuvate keskkonnatingimustega, sealhulgas ka käimasolevate kliimamuutustega. See on võimalik juhul, kui taastamisel ei piirduta kohalikul tasandil sobivate kasvukohatingimuste taastamisega, vaid luuakse soodsaid tingimusi populatsioonide vahelise sidususe loomiseks nii maastiku- kui ka suuremas ruumiskaalas (Kramer & Havens 2009; Aavik & Helm 2017). Oluliste teadmiste rakendamiseks peaks looduskaitsebioloogia ja taastamisökoloogia laiendama ka kasutatavate meetodite valikut. Looduskaitsegeneetika on tööriist, mille abil on võimalik vastata paljudele erinevatele looduskaitsele huvipakkuvatele küsimustele. Muuhulgas aitavad geneetilised meetodid planeerida optimaalseid viise taastamiseks ning hinnata nende edukust, vältimaks taimepopulatsioonide edasist kadumist ja liikide väljasuremist ning tagades populatsioonide võimekust kohastuda muutuvate keskkonnatingimustega.

Käesoleva töö eesmärgiks on teadvustada geneetiliste uuringute tähtsust eeskätt olulisemate elurikkust mõjutavate tegurite mõju hindamisel, kuigi võimalike looduskaitsele küsimuste amplituuda, millele geneetilised uuringud vastata võimaldavad, on märkimisväärselt laiem. Enim tähelepanu pööratakse taimepopulatsioonide kaitset ja taastamist hõlbustavate geneetiliste uuringute tutvustamisele. Töö esimeses peatükis keskendutakse kasvukohtade pindala vähenemisest ja killustumisest põhjustatud geneetiliste probleemide tuvastamisele. Teises peatükis arutletakse, kuidas geneetilised meetodid aitavad hinnata taimede kohastumisvõimet kliima- ja muude keskkonnatingimuste muutustega. Kolmandas peatükis antakse ülevaate sellest, kuidas erinevad geneetilised uuringud aitavad lahendada taksonoomia ja hübriidiseerumisega seotud probleeme. Neljandas, tutvustatakse põgusalt looduskaitsegeneetikas enim kasutatavaid geneetilisi markereid ning mitmekesisuse indekseid ja analüüsimeetodeid. Lugemise hõlbustamiseks on tööle lisatud enim kasutatavate mõistete sõnastik, milles esinevad sõnad on esmamainimisel ära märgitud tärniga. Ülevaade Eestis viimase kümnendi jooksul läbiviidud taimepopulatsioonide kaitset ja taastamist puudutavatest looduskaitsegeneetilistest uuringutest on lisatud lissasse (lisa 1).

Töös enim kasutatavate mõistete sõnastik (põhineb õpikutel "Sissejuhatus looduskaitsebioloogiasse" (Primack *et al.* 2008) ja "Geneetika. Õpik kõrgkoolile" (Heinaru 2012)).

Alleel (ingl *allele*) – kromosoomi lookuses olev üks kahest või mitmest alternatiivsest geeniteisendist.

Ex situ liigikaitse (ingl *ex situ preservation*) – liigikaitse tehistingimustes (loomaaedades, akvaariumides, botaanikaaedades jm).

Fenotüüp (ingl *phenotype*) – organismi vaadeldavad tunnused, mis on määratud tema genotüübi ja keskkonnategurite koostoimes.

Geenitriiv (ingl *genetic drift*) – populatsiooni alleelisageduste muutus põlvkondade vahel juhuslike kõrvalekallete tõttu.

Geenivool (ingl *gene flow*) – geneetilise info levik ühest populatsioonist teise isendite, seemnete ja õietolmu leviku teel.

Genotüüp (ingl *genotype*) – organismi geneetiline struktuur (geenilookuste alleelne koosseis).

Hardy-Weinbergi printsiip (ingl *Hardy-Weinberg principle*) – matemaatiline seaduspärasus, mis võimaldab määrata populatsioonis juhuslike ristumiste korral genotüüpide sagedusi lähtuvalt olemasolevates alleelisagedustest.

In situ looduskaitse (ingl *in situ preservation*) – liikide (populatsioonide) kaitse nende looduslikus elupaigas.

Kaugristumissurutis ehk autbriiddepressioon (ingl *outbreeding depression*) – väga erineva geneetilise materjaliga isendite (sugulasliikide, alamliikide või ka eristunud populatsioonide isendite) paaritumisel tekkiva järglaskonna elujõetus, viljatus või võimetus keskkonnaga kohaneda.

Kohasus (ingl *fitness*) – isendi keskkonnatingimustega kohastumise ja kohanemise aste, mis väljendub paljunemisedukuses (paljunemisvõimeliste järglaste arvus).

Lähiristumissurutis ehk inbriiddepressioon (ingl *inbreeding depression*) – omavahel lähisuguluses olevate isendite ristumisel avalduv järglaste väiksem elujõud ja vähenev viljakus või isegi steriilsus.

Pudelikaelaefekt (ingl *bottleneck effect*) – geenitriivi erivorm, mille puhul populatsiooni arvukus on ajutiselt drastiliselt alanenud.

Rajajaefekt (ingl *founder effect*) – populatsiooni pudelikaela erijuht, mille puhul lähtepopulatsioonist irdunud või eemaldatud üksikud isendid panevad aluse uuele populatsioonile.

1. Kasvukohtade pindala kaost ja killustatusest põhjustatud probleemide tuvastamine

Kasvukohtade killustumine ehk fragmenteerumine on üks olulisemaid elurikkust ohustavaid tegureid (Haddad *et al.* 2015), mis võib mõjutada taimepopulatsioonide geneetilist mitmekesisust ning sellega seotud kohasust* ja pikaajalisemat kohastumisvõimet mitmel moel. Seetõttu on looduskaitsegeneetika üheks oluliseks ülesandeks tuvastada selliseid maastike ümberkujundamisest põhjustatud geneetilise mitmekesisuse muutusi ning olukorra parandamiseks sobivaid tegevusi soovitada. Esiteks, kasvukohtade kadu vähendab populatsioonide suurust (Young *et al.* 1996). Teiseks, kasvukohtade ruumiline killustumine suurendab taimepopulatsioonidevahelist ruumilist isolatsiooni, mille tulemusel väheneb populatsioonidevaheline geenivool* (Honnay & Jacquemyn 2007). Nii populatsioonide suuruse kahanemine kui ka ruumiline killustumine võib omakorda kaasa tuua populatsioonidesisese geneetilise mitmekesisuse vähenemise ja sellega seotud kohasuse languse (Young *et al.* 1996). Kasvukohtade killustumise mõju pole aga kõikidele taimeliikidele ühesugune ning sõltub mitmetest erinevatest tunnustest.

Käesolevas peatükis antakse ülevaate looduskaitsegeneetilistest uuringutest, mis aitavad tuvastada kasvukohtade killustumise mõju nii populatsioonisisesele geneetilisele mitmekesisusele kui ka geenivoolule, ja hinnatakse nende tegurite võimalikke looduskaitselisi tagajärgi. Lisaks tuuakse välja olulisemad taimede tunnused, mis elupaikade killustumise ja geneetilise mitmekesisuse vahelisi seoseid võivad mõjutada.

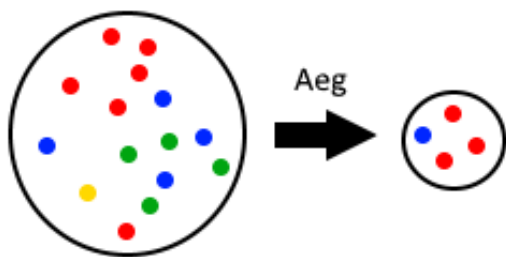
1.1. Populatsioonisisese geneetilise mitmekesisuse hindamine

Üks olulisemaid elupaikade killustumisega kaasnevaid populatsioonide geneetilist mitmekesisust mõjutavaid tegureid on populatsioonide suuruse kahanemine. Mida suurem on populatsioon, seda suurem on reeglina selle populatsiooni geneetiline mitmekesisus (Frankham *et al.* 2004; Leimu *et al.* 2006). Väiksemad populatsioonid on üldjuhul haavatavamad, kuna nendes suureneb geneetilise triivi* roll (peatükk 1.1.1), kasvab lähirustumise* tõenäosus (peatükk 1.1.2), kahaneb geneetiline mitmekesisus ning kaasneb kahjulike mutatsiooni kuhjumine (Young *et al.* 1996).

Populatsioonide suuruse ning geneetilise mitmekesisuse vahelist seost on näidanud paljud uuringud. Ilves *et al.* (2013) uurimuses selgus, et üliharuldase taimeliigi hariliku kobarpea (*Ligularia sibirica*) geneetiline mitmekesisus Eestis oli positiivselt seotud populatsioonisuurusega. Leiti, et geneetiline mitmekesisuse kadumine aja jooksul (geneetiline erosioon) võis osaliselt põhjustada väiksemate populatsioonide madalamat kohasust. Sarnaselt eelneva uuringuga leiti positiivne seos ka haruldase niiduliigi *Dianthus sequieri ssp. glaber* populatsioonisuuruse ja geneetilise mitmekesisuse vahel (Busch & Reisch 2016). Leimu *et al.* (2006) metaanalüüs, mis koondas suure hulga selleteemaliste uuringute tulemusi, näitas, et taimepopulatsiooni suurus, kohasus ja geneetiline mitmekesisus on üksteisega tõepoolest enamikel juhtudel positiivselt seotud. Need näited kinnitavad veelkord, et väiksemaid populatsioone iseloomustab sageli madalam geneetiline mitmekesisus. Tuleb aga silmas pidada, et vähenenud taimede kohasust väikestes populatsioonides mõjutavad lisaks kahanenud geneetilisele varieeruvusele ka keskkonnafaktorid, demograafiline juhuslikkus (geenitriiv, vt peatükk 1.1.1), lähiristumine (vt peatükk 1.1.2), uuritavate taimede tunnused (vt peatükk 1.3) ja biotilised interaktsioonid (Leimu *et al.* 2006), mida tuleb looduskaitsetegevuse planeerimisel samuti arvesse võtta.

1.1.1. Geenitriiv

Geenitriiviks nimetatakse alleelisageduste juhuslikke põlvkondadevahelisi muutusi, mille erijuhtudeks on pudelikaelaefekt* ja rajajaefekt* (Heinaru 2012). Geenitriiv mõjutab tugevamalt eelkõige väikesed populatsioone (Primack *et al.* 2008). Alleelisageduste juhuslikud muutused ja alleelide kadu populatsioonis toimivate pudelikaelaefektide tõttu mängivad olulist rolli taimepopulatsioonide geneetilisel vaesustumisel ja sellega seotud kohasuse ning pikaajalisema kohastumisvõime kahanemises, kuna triivi tõttu võib populatsioonist kaduda mõni kohasuse ja adaptatsioonivõime seisukohast oluline geenivariant ehk alleel (Young *et al.* 1996; Honnay & Jacquemyn 2007). Samuti on protsessist mõjutatud väikesed populatsioonid tundlikumad ka teiste kahjulike geneetiliste mõjude suhtes, nagu lähi- ja kaugristumissurutis* (Reed & Frankham 2003; Primack *et al.* 2008; vt peatükk 1.1.2. ja 1.1.3). Kuna viimase sajandi jooksul asetleidnud kasvukohtade killustumisega kaasnud olulisemaid elurikkust mõjutavaid tegureid on olnud populatsioonisuuruste järsk kahanemine, siis võib arvata, et väga paljud taimepopulatsioonid on pudelikaelaefekti poolt mõjutatud.



Joonis 1. Populatsiooni suuruse kiire vähenemine aja jooksul pudelikaela tõttu. Ringi suurused tähistavad populatsioonisuuruse kahanemist, värvilise ringid aga erinevate isendite genotüüpe*. Isendite arvukuse kahanemisel kaovad juhuslikult populatsioonist rohelised ja kollased genotüübid ning muutub siniste ja punaste genotüüpide sagedus. Joonis on eestikeelseks kohandatud väljaande "Naturschutzgenetik" põhjal (Holderegger & Segelbacher 2016).

Jacquemyn *et al.* (2010) uurisid haruldase varretu ohaka (*Cirsium acaule*) geneetilist mitmekesisust, eeldades, et kasvukohtade killustumise tagajärjel on populatsioonide geneetilist mitmekesisust mõjutanud eelkõige pudelikaelaefekt. Hinnates nii ajaloolist kui tänapäevast kasvukohtade pindala leidsid nad, et geneetilise pudelikaela olid läbinud just need populatsioonid, mis asusid kasvukohtades, mille pindala oli viimase sajandi jooksul märkimisväärselt kahanenud. Samuti tõdeti, et geenivoolu puudumine fragmenteerunud maastikus ei võimalda geenitriivi kaudu kaduma läinud alleelide ehk geenivariantide levikut pudelikaela läbinud populatsioonidesse, mis võib omakorda peegelduda populatsiooni kahanenud elujõulisuses (Couvet 2002; Jacquemyn *et al.* 2010). Sarnaselt eelnevaga tuvastasid Aavik *et al.* (2017), et kõik vaadeldud endemse ja haruldase saaremaa robirohu (*Rhinanthus osilinesis*) populatsioonid olid hilises minevikus kogenud olulist populatsioonisuuruse vähenemist, mis väljendus geneetilises pudelikaelaefektis. Tõenäoline põhjus seisnes kasvukohtade (allikasood ja teised märgalad) pindalade drastilises vähenemises viimase sajandi jooksul ning populatsioonide vahelise sidususe kaos.

Teiseks geenitriivi erijuhuks on rajaefekt ehk asutajaefekt, mille käigus populatsioonist eraldunud isendid loovad reeglina võrreldes allikpopulatsiooniga väiksema ja seega ka geneetiliselt vaesema populatsiooni (Heinaru 2012), mistõttu tuleks võimalikku rajajaefekti teket nii olemasolevate populatsioonide kaitsel kui ka uute populatsioonide taastamisel (nt. isendite ümberistutamisel) kindlasti vältida. Mitmed uuringud aga näitavad, et uue kasvukoha hõivamise käigus võidakse teatud tingimustel asutajaefekt ületada. Mõnel juhul ei teki seda üldse ning säilib allikpopulatsiooniga sarnane kõrge geneetiline mitmekesisus. Näiteks eeldati Helsen *et al.* (2013) poolt tehtud uuringus, et uued, hiljuti kolonisatsiooni läbi teinud hariliku

pune (*Origanum vulgare*) populatsioonid kannatavad asutajaefekti all, kuid geneetiline uuring tuvastas, et enamik geneetilise mitmekesisuse parameetreid olid sarnased n-ö. emapopulatsioonide vastavate näitajatega. Taimepopulatsioonide võimekus vältida efekti sõltus suuresti naaberpopulatsioonide arvust: mida rohkem leidis uute punepopulatsioonide ümbruses teisi geneetiliselt mitmekesiseid sama liigi populatsioone, seda väiksem oli tõenäosus, et antud populatsioon pudelikaelaefekti all kannatab. Teise, Eestis läbi viidud uuringu käigus, vaadati halli käpa (*Orchis militaris*) hiljutise kolonisatsiooni mõju geneetilist varieeruvusele n-ö. vanades, geneetiliselt rikastes ja uutes populatsioonides. Leiti, et uued populatsioonid ei kannatanud asutajaefekti all ning olid geneetiliselt üpris mitmekesised (Ilves *et al.* 2015). Mõlema uuringu puhul võib eeldada, et efekti vältimise tagas piisavalt sidus maastik ning teiste võimalike allikpopulatsioonide sealne olemasolu.

1.1.2. Lähiristumine

Kui populatsioonis isendite arvukus märkimisväärselt väheneb, suureneb tõenäosus paljuneda omavahel suguluses olevate isendite vahel (Young *et al.* 1996). Lähiristumisega kaasneb enamasti suurenenud homosügootsus, mis suurendab võimalike kahjulike retsessiivsete mutatsioonide avaldumist ja fikseerumist. See omakorda kahandab taimede kohasust (Reed & Frankham 2003). Lähiristumise oluline mõju taimede kohasusele ja populatsioonide elujõulisusele väljendub lähiristumissurutises ehk inbriiddepressioonis (Charlesworth & Willis 2009). Kui lähiristumine on populatsioonis toimunud pikka aega, võib tugevnenud loodusliku valiku surve kahjulikud mutatsioonid populatsioonidest eemaldada (ingl *genetic purging*). Pikaealisemate liikide puhul võivad aga muutused populatsioonide suuruses olla liiga kiired ning keskkonnategurite muutuste poolt avaldatav häiring liiga tugev, mistõttu looduslik valik ei jõua negatiivseid kahjulikke mutatsioone piisavalt kiirelt eemaldada, nii et säiliks populatsiooni pikaajalisem elujõulisus. Seetõttu on lähiristumise tuvastamine ja negatiivsete tagajärgede vältimine üks olulisemaid tegureid, millega väikeste populatsioonide kaitsel tegeleda tuleks.

Aavik *et al.* (2012) uurisid 26 käokanni (*Lychnis flos-cuculi*) populatsiooni geneetilist mitmekesisust, lähiristumist ja geneetilist struktuuri. Uuritud populatsioonidest olid umbes pooled looduslikku päritolu. Ülejäänud populatsioonid olid taastatud seemnefirmadest pärit seemnesegude külvamise teel. Vaatamata taastamisprojekti seemnetega varustanud ettevõtte pingutusele säilitada seemnesegudes geneetiline mitmekesisus, täheldati taastatud

käokannipopulatsioonides kolm korda suuremat lähiristumiskoeffitsenti kui looduslikes populatsioonides. See võis tuleneda peamiselt kahest asjaolust: (1) kas sellest, et seemnefirma, kus taastamiseks kasutatud seemneid paljundati, kogus seemned paljundamiseks väikestest populatsioonidest või/ja kõrge lähiristumiskoeffitsiendiga populatsioonist, või (2) kaasneb lähiristumiskoeffitsiendi paratamatu kasv sellega, et seemnefirmades samast allikast pärit seemnematerjali üle liiga paljude põlvkondade paljundatakse.

Talve *et al.* (2012) järeldas oma uuringus, et saaremaa robirohu (*R. osiliensis*) kehvi idanemisvõime võib olla seotud kõrge lähiristumisega. Nimelt iseloomustas liigi seemneid võrreldes teiste robirohuliikidega märkimisväärselt väiksem idanevus, madalam heterosügootsus ja kõrgem lähiristumiskoeffitsent. Pole välistatud, et madalat idanevust kui ühte kohasust indikeerivat tunnust põhjustas lähiristumissurutis. Samuti leiti uuringus, mis keskendus maastikumuutuste mõju hindamisele saaremaa robirohupopulatsioonide geneetilisele mitmekesisusele, et vaadeldud populatsioonid kannatasid kõrge lähiristumise all. Seetõttu peaksid edaspidised uuringud välja selgitama, kas kõrge lähiristumismäär haruldase liigi populatsioonides põhjustab madalamat kohasust ning ohustab selle kaudu populatsioonide pikaajalist püsijäämist (Aavik *et al.* 2017). Ka teised uuringud on tuvastanud haruldaste tundlikkust lähiristumisele. Severns (2003) uuris, kuidas mõjutab lähiristumine ja populatsiooni suurus haruldase taimeliigi *Lupinus sulphureus ssp. kincaidii* seemnete produktsiooni ja teisi kohasuse tunnuseid. Leiti, et lähiristumissurutis põhjustas lähiristumisele tüüpilisi sümptomeid, nt. madalat seemnete arvu.

Elupaigakao tagajärjel muutuvad taimepopulatsioonid väiksemaks ja isoleeritumaks, mistõttu on hea levikuvõime säilitamine geneetilise mitmekesisuse tagamiseks äärmiselt oluline. Mix *et al.* (2006) aga leidsid, et lähiristumine võib märkimisväärselt kahandada püsik-pörsasheina (*Hypochaeris radicata*) levikuvõimet. Niisiis ei mõjuta lähiristumine negatiivselt mitte üksnes kohasust, vaid ka isendite maastiku skaalas levikut.

1.1.3. Geneetiline rikastamine ning kaugristumissurutis

Geneetiline rikastamine (ingl *genetic rescue*) ehk madala geneetilise mitmekesisusega populatsioonidesse uute genotüüpide toomine on üks looduskaitselisi lahendusi populatsioonide geneetilise vaesumise ning sellega seotud geenitriivi ja lähiristumise probleemiga tegelemiseks. Märkimisväärselt positiivset mõju geneetiliselt vaesunud

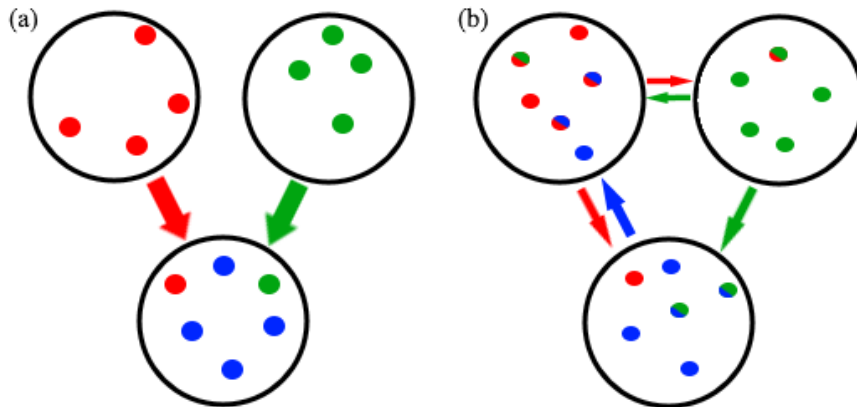
populatsioonide kohasusele on demonstreeritud paljudes looduskaitsealastes uuringutes (Frankham 2016). Reynolds *et al.* (2012) näitasid mererohu (*Zostera marina*) näitel, et geneetiline rikastamine tõstab oluliselt taastatavate populatsioonide kohasust. Sarnaselt eelnevaga uurisid Pickup *et al.* (2013) rikastamise mõju haruldase mitmeaastase taimeliigi *Rutidosia leptorrhynchoides* kohasusele üle mitme põlvkonna. Uurimuses selgus, et tegevusest võivad eeskätt väikesed populatsioonid, mida iseloomustas kõrge lähiristumiskoeffitsient. Tulemus oli parim, kui populatsioonid, mida rikastamise doonorina kasutati, olid suured ja geneetiliselt mitmekesisemad.

Üks võimalikke negatiivseid nähtusi, mis geneetilise mitmekesisuse rikastamisega võib kaasneda, on kaugristumine ehk autbriiding. Kaugristumissurutiseks (ingl *outbreeding depression*) nimetatakse järglaste kohasuse langust, kui vanemad on geneetiliselt liiga erinevad. Sagedasem on see populatsioonidevahelisel ristumisel, mis on kohastunud erinevate keskkonnatingimustega. Nad on geneetiliselt väga erinevad ning mille levik on geograafiliselt piiratud (Frankham *et al.* 2004). Kaugristumissurutist on täheldatud ka mitmes looduskaitsealastes uuringutes. Fenster & Galloway (2000) uurimuses liigiga *Chamaecrista fasciculata* leiti, et kaugristumissurutis avaldus alles siis, kui doonor- ja rikastatav populatsioon asusid üksteisest väga kaugel. Hilise generatsiooni hübriididel (F3) vähenes kohasus rohkem võrreldes esimese põlvkonna hübriididega (Fenster & Galloway 2000). Tihtipeale avaldabki kaugristumissurutis hilisemates põlvkondades, kui epistaatilised (koadapteerunud) geenikomplektid hakkavad rekombinatsiooni tagajärjel lagunema (Edmands 2006). Teisalt on mitmed ülevaattetööd näidanud, et isegi kui ristuvate populatsioonide tulemuseks on ajutine kaugristumissurutis, viib looduslik valik kiire kohasuse taastumiseni ja lõpuks tihti paremagi kohastumiseni (Frankham *et al.* 2004). Samas tuleks aga iga liigi puhul eraldi hinnata võimalikke lähiristumise ja kaugristamise ohte ja võimalusi, et kaugristumissurutise risk oleks võimalikult väike (Edmands 2006).

1.2. Populatsioonidevahelise geenivoolu tuvastamine

Geenivooluks nimetatakse populatsioonidevahelist geneetilise info vahetust (Heinaru 2012), mis taimede puhul toimub seemnete ja õietolmu leviku teel. Geenivoolu käigus võivad genofondi sattuda uued alleelid*, mis suurendavad populatsioonide geneetilist mitmekesisust ja sellega kaasnevat kohasust (Frankham *et al.* 2004). Elupaikade killustumise tagajärjel ei suuda vool paraku sageli enam tagada kaotatud alleelide taastumist (Honnay & Jacquemyn

2007). Et aga taastuks populatsioonidesisene geneetiline mitmekesisus, on populatsioonide taastamisel ja edasisel kaitsel äärmiselt oluline tagada nende vaheline geneetilise materjali levik ning hinnata, kas elluviidud kaitse- ja taastamismeetodid seda ikka võimaldavad.



Joonis 2. Skemaatiline joonis kujutab geneetiliste meetodite abil geenivoolu hindamist. Joonisel (a) on kujutatud geenivoolu erinevate populatsioonide (ringide) vahel. Värvid tähistavad erinevaid genotüüpe. Geneetilise uuringu abil on võimalik tuvastada, millised isenditest on hiljuti populatsiooni levinud (nt. 'punane' ja 'roheline' isend 'siniste' genotüüpidega populatsioonis on levinud vastavalt 'punaste' ja 'roheliste' genotüüpidega populatsioonist). Nooled tähistavad rändamissuunda. Joonisel (b) kujutavad kahevärvilised punktid indiviide, kes on pärinud oma vanematelt erinevad geenivariandid ehk alleelid. Samuti on kujutatud praeguste populatsioonide järeltulijaid ja välja- ja sisserändajad (põlvnemise tuvastamise meetodid). Noolte paksus tähistab geneetilise info vahetuse ulatust (Csencsics & Gugerli 2017).

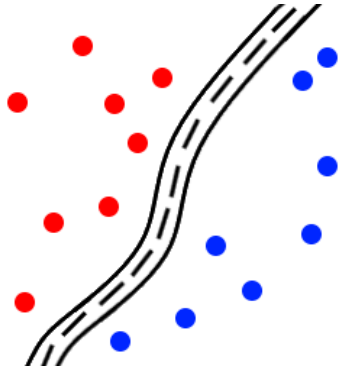
Paraku on taimede puhul geenivoolu raske ning paljude liikide puhul võimatu tavapärase ökoloogiliste meetoditega uurida. Üks looduskaitsepraktikas vähem kasutatust leidnud võimalusi õietolmu ja seemnete leviku hindamiseks on geneetiliste meetodite kasutamine (Aavik & Helm 2017; joonis 2). Näiteks võib kasutada voolu indikaatorina populatsioonide vahelist geneetilist erinevust (Holderegger *et al.* 2010). Mõned meetodid võimaldavad aga konkreetsemalt hinnata, millised analüüsitud isenditest on hiljaaegu populatsiooni levinud ning millised on n-ö. kohaliku päritolu (Manel *et al.* 2005; joonis 2).

Alati ei pruugi taimepopulatsioonide taastamine tagada maastikuskaalas populatsioonide vahelist seemnete ja õietolmu levikut. Aavik *et al.* (2013) uurisid geneetiliste meetodite abil ligi 10 aastat tagasi taastatud ning looduslikku päritolu käokanni (*Lychnis flos-cuculi*) populatsioonide vahelist geenivoolu. Leiti, et külvatud ja looduslikku päritolu populatsioonide vaheline geenivool oli väga piiratud. Üheks põhjuseks oli tõenäoliselt populatsioonide ruumiline isolatsioon hoolimata taastamisest. See omakorda võis takistada taime seemneid ning õietolmu levitavate vektorite (peamiselt tolmeldajate) liikumist populatsioonide vahel. Seetõttu

tuleks taastamisel tagada mitte üksnes populatsioonide omavaheline ruumiline sidusus, vaid tuleks luua ka tingimused levikuvektorite liikumiseks.

Ka mitmed teised looduskaitsegeneetilised uuringud on näidanud levikuvektorite olulisust populatsioonidevahelise sidususe taastamisel. Niiduliigi kartusia nelgi (*Dianthus carthusianorum*) seemnetel puuduvad morfoloogilised tunnused, mis võimaldaks neil levida loomade või tuulega. Siiski näitas Rico *et al.* (2014) uuring, et seemnete levimine karjatamise kaudu oli üks oluline uuritud populatsioonide geneetilist struktuuri mõjutavaid tegureid. Omavahel kariloomade kaudu ühenduses olnud taimepopulatsioonid olid geneetiliselt palju sarnasemad kui need, mis ei olnud kariloomade liikumise abil funktsionaalselt ühendatud. Kasutades geneetilisi meetodeid, leiti sarnane tulemus ka teise liigi hariliku karukella (*Pulsatilla vulgaris*) puhul. Lammaste karjatamise kaudu paranes rohumaade sidusus ning suurenes populatsioonide geneetiline mitmekesisus. Samuti täheldati, et kõrgema geneetilise mitmekesisusega populatsioonid tootsid rohkem ja raskemaid seemneid (DiLeo *et al.* 2017).

Populatsioonidevahelist geenivoolu võivad takistada ka erinevad maastikuelemendid (joonis 3). Teadmised sellest, millised maastikuelemendid toimivad barjäärina, millised aga voolu soodustavad, võivad märkimisväärselt looduskaitsetegevuste edukust tõsta (Keller *et al.* 2015). Aavik *et al.* (2017) uurisid haruldase endeemse saaremaa robirohu (*R. osiliensise*) populatsioonide geneetilist mitmekesisust. Leiti, et populatsioone ümbritseva maastiku võsastumine ning metsastumine mõjutas alleelide sagedust negatiivselt ja võis suurendada ka lähiristumist. Mets käitus tõenäoliselt kui õietolmu levikubarjäär, takistades tolmeldavate putukate liikumist ühest populatsioonist teise. Samale järeldusele jõuti ka ühes teises uuringus, kus hinnati erinevate maastikuelementide mõju hariliku karukella (*Pulsatilla vulgaris*) populatsioonidevahelisele tolmeldamisedukusele (DiLeo *et al.* 2018). Need tööd näitavad, et maastikukujundus populatsioonide ümber ja vahel võib mängida väga olulist rolli taimede geneetiliste mustrite kujundamisel (nt. geenivool, pudelikaelaefekt, lähiristumine) ning omavad tähtsaid tagajärgi taimepopulatsioonide kaitses ja taastamises.



Joonis 3. Skemaatiline joonis, mis kujutab erinevaid geneetilisi gruppe (punased ja sinised ringid). Populatsioonid on geograafiliselt eraldatud barjääriga (nt. maantee või sõltuvalt uuritavast liigist mõne muu geenivoolu takistava maastikuelemendiga; Csencsics & Gugerli 2017), mis takistab populatsioonidevahelist geenivoolu hoolimata ruumilisest lähedusest.

1.3 Taimetunnuste mõju kasvukohtade killustumise ja geneetilise mitmekesisuse vahelistele seostele

1.3.1. Taimeliikide haruldus

Tavapäraselt on looduskaitsegeneetilised uuringud keskendunud peamiselt haruldaste liikide uurimisele, eeldades, et kasvukohtade killustumise suhtes on kõige tundlikumad just haruldused. Geneetiliste meetodite laialdasem kasutuselevõtt on aga üha enam võimaldanud kirjeldada ka tavalisemate liikide geneetilist mitmekesisust. Need uuringud on näidanud, et ka tavalised liigid on sama ohustatud elupaikade killustatuse poolt nagu haruldased liigid (Hooftman *et al.* 2004; Honnay & Jacquemyn 2007), andes tunnistust sellest, et kasvukohtade killustumine mõjutab palju enamaid liike, kui me eelnevalt oleme arvanud. Seega tuleks looduskaitsetegevuse fookust laiendada haruldastelt liikidelt ka tavalisematele.

Tavalise kasvukohaspetsialistist taimeliigi geneetiline varieeruvus võib tegelikult olla paremaks kasvukohtade killustumise mõju indikaatoriks võrreldes liigirikkusega. Näiteks leidsid Helm *et al.* (2009), et pool-looduslikele kooslustele iseloomuliku liigi keskmise väriheina (*Briza media*) populatsioonide geneetiline mitmekesisus Lääne-Eesti loopealsetel oli kasvukohtade pindalakaole juba reageerinud erinevalt samade loopealsete taimede liigirikkusest. Seega võib oletada, et loopealsete kooslusi iseloomustas väljasuremisvõlg (Helm *et al.* 2006), mis taimepopulatsioonide edasise geneetilise erosiooni tõttu lähemas tulevikus "tasutakse". Uuring kinnitas taas, et ka tavalised liigid võivad olla haavatavad kasvukohtade

killustatuse poolt, kuid kohalike liikide väljasuremine ja populatsiooni geneetilise seisundi halvenemine toimuvad erinevatel ajaskaaladel (Helm *et al.* 2009).

1.3.2. Paljunemisviis

Paljunemisviis võib oluliselt mõjutada taimepopulatsioonide tundlikkust kasvukohtade killustatuse geneetilistele tagajärgedele (Leimu *et al.* 2006; Honnay & Jacquemyn 2007). Risttolmlevad liigid on elupaikade kao suhtes üldiselt rohkem tundlikud kui isetolmlevad liigid (Honnay and Jacquemyn 2007). Eriti mõjutatud on putuktolmlevad risttolmlejad (Aguilar *et al.* 2008), kuna nende liikide edukas paljunemine sõltub otseselt interaktsioonidest tolmeldajatega, kelle mitmekesisus ja arvukus on maastikumuutuste tõttu märkimisväärselt kahanenud (Valiente-Banuet *et al.* 2015).

Koelling *et al.* (2011) uurisid kahe endeemse seedripuu liigi (*Leavenworthia alabamica* ja *L. crassa*) paljunemisviisi mõju geneetilisele mitmekesisusele. Leiti, et iseviljastuval sõsarliigil oli madalam geneetiline mitmekesisus kui isesobimatul (ingl *self-incompatibility*) liigil. Isesobimatute genotüüpide kadu võib viia aga populatsioonide mitmekesisuse vähenemisele (Koelling *et al.* 2011). Samas, kuigi iseviljastuvate liikide puhul esineb lähiristumist sagedamini kui risttolmlevatel liikidel, ei viita see alati populatsiooni elujõulisuse vähenemisele (Frankham *et al.* 2004). Need liigid võivad olla vähem vastuvõtlikumad populatsiooni väiksuse negatiivsetele mõjudele, kui pika ajalooga lähiristumine on võimaldanud retsessiivsete alleelide populatsioonist eemaldamist (Busch 2005).

1.3.3. Taimede ja seemnepanga eluiga

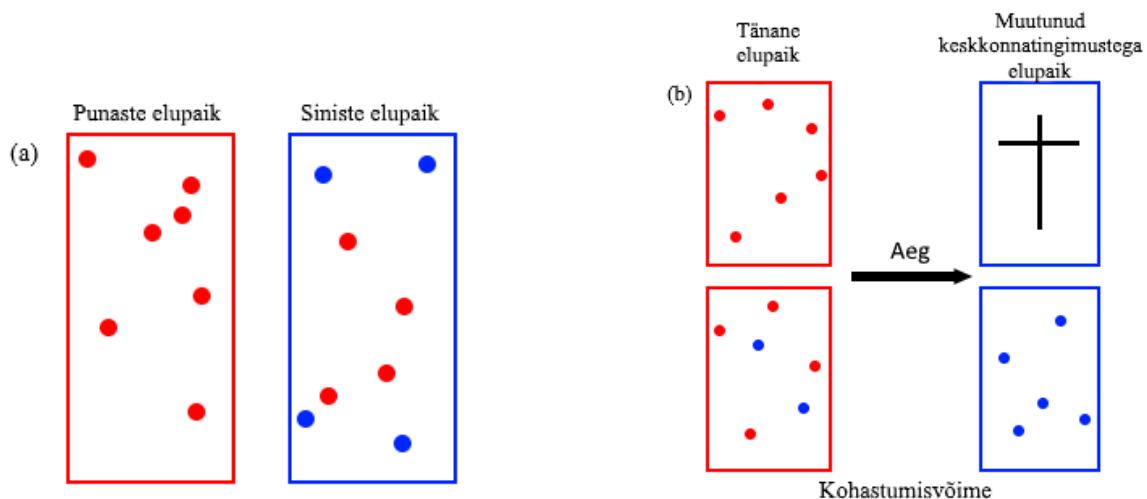
Taimepopulatsioonide geneetilise mitmekesisuse hindamisel ning sellele tuginevate looduskaitse otsuste langetamisel tuleb arvesse võtta nii taimede kui ka seemnepanga eluiga. Pikaajalisemate liikide populatsioonide geneetiline mitmekesisus võib peegeldada hoopis ajaloolist maastiku struktuuri või/ja mineviku keskkonnatingimusi, s.t. et esineb n-ö. geneetiline väljasuremisvõlg (ingl *genetic extinction debt*; Vranckx *et al.* 2012). Geneetiline mitmekesisus populatsioonis pole veel maastikumuutustele taimede pikaajalisuse tõttu jõudnud reageerida, mistõttu võib jääda ekslik mulje, et neid populatsioone geneetilise mitmekesisuse kadu ja sellega seotud negatiivsed tagajärjed ei mõjuta. Sellisel puhul tuleks analüüsi kaasata

kindlasti ka ajaloolise maastiku mõju. Seega võib eeldada, et üheaastased ja teised lühema elueaga liigid reageerivad tõenäoliselt maastikumuutustele kiiremini (Aavik *et al.* 2017).

Ka pikaealine seemnepank võib maastikumuutuste negatiivset mõju geneetilisele mitmekesisusele puhverdada. Plue *et al.* (2017) uurisid ümarlehise kelluka (*Campanula rotundifolia*) seemnepanka ning seda, kuidas võiks see mõjutada liigi geneetilist väljasuremisvõlga. Leiti, et kelluka fragmenteerunud populatsioonides esines tõepoolest geneetiline väljasuremisvõlg: maapealsete taimede geneetiline mitmekesisus oli seotud niidu ajaloolise pindala ja sidususega. Samas seemnepanga roll väljasuremisvõla tekkimisel oli suhteliselt väike ning autorid järeldasid, et see siiski ei võimalda piisavalt puhverdada kasvukohtade killustatusega seotud kahjulikke mõjusid geneetilisele mitmekesisusele.

2. Taimepopulatsioonide kohastumisvõime hindamine

Taimepopulatsioonide taastamisel ja kaitsmisel on väga oluline hinnata nende potentsiaali kohastuda uute keskkonnatingimustega, sealhulgas kliimamuutustega, kuna nende võime ebasobivate keskkonnatingimuste ilmnedes uutesse sobivamatesse kasvukohtadesse edasi liikuda on piiratud. Paraku on kasvukohtade killustatus märkimisväärselt kahandanud taimepopulatsioonide võimet kliimamuutustele reageerida (Leimu *et al.* 2010). Nende kahe teguri, keskkonnamuutuste ja elupaikade killustatuse, võimaliku negatiivse koosmõju tõttu tuleb taastatavate populatsioonide geneetilist mitmekesisust ning sellega seotud kohastumisvõime hindamist pidada väga oluliseks taimepopulatsioonide kaitse- ja taastamistööde planeerimise etapiks. Populatsioonid, mille kaitsel ja taastamisel pole adaptiivse potentsiaaliga arvestatud, võivad olla oluliselt vastuvõtlikumad kahjuritele, haigustele ning pikaajaliste kliimamuutuste kui ka ajutiste äärmuslike ilmastikunähtuste suhtes (Jump & Peñuelas 2005).



Joonis 4. Skemaatiline joonis populatsioonide kohastumisvõime hindamise kohta geneetiliste meetodite abil. Joonisel (a) on kujutatud erinevate isendite kohastumust erinevate kasvukohatingimustega, mida tähistavad erinevad värvid (punane ja sinine): ‘punases’ kasvukohas leiduvad isendid on väga tugevalt kohastunud vastavate kasvukohatingimustega, kuid ‘sinises’ kasvukohas leidub isendeid, kes on hästi kohastunud nii lokaalsete keskkonnatingimustega, kuid ka neid, kes suudavad toime tulla ‘punases’ elupaigas, s.t. selle populatsiooni adaptatiivne geneetiline mitmekesisus on kõrgem. Joonis (b) peegeldab erinevate populatsioonide võimet kohastuda uute kasvukohatingimustega (nt. kliimamuutustega). Ülemisel juhul kohastumisvõime toime tulla uutes kasvukohatingimustes puudub, alumises populatsioonis leidub aga isendeid, kelle genotüüp lubab toime tulla ka keskkonnatingimuste muutudes. Joonis on eestikeelseks kohandatud väljaande ‘Natuschutzgenetik’ põhjal (Csencsics & Gugerli 2017).

Senisest efektiivsemad geneetilised meetodid kombineerituna maastiku- ja keskkonnatingimuste analüüsiga aitavad tuvastada erinevatele keskkonnatingimuste muutustele reageerimist võimaldavaid geneetilisi markereid ning seega hinnata taastatavate ja kaitstavate taimepopulatsioonide kohastumisvõime erinevust (Forester *et al.* 2016; joonis 4). Kuni hilise ajani on taimepopulatsioonide geneetilise mitmekesisuse taastamisel aluseks võetud eeskätt geneetilist varieerumist genoomi mitteadaptiivses piirkonnas (n-ö. neutraalne geneetiline mitmekesisus), mis aga ei pruugi olla vastavuses keskkonnatingimustele vastamiseks vajaliku adaptiivsega (Holderegger *et al.* 2006). Seetõttu tuleks taimepopulatsioonide taastamise planeerimisel laialdasemalt kasutusele võtta just adaptiivset geneetilist varieerumise hindamist võimaldavaid uudseid meetodeid. Kõrge adaptiivne geneetiline mitmekesisus on oluliseks eeltingimuseks elujõuliste ja häiringutele vastupidavate populatsioonide rajamisel (Mijangos *et al.* 2015).

2.1. *In situ* kohastumisvõime

Käimasolevate kliimamuutuste ajastul on äärmiselt oluline, et looduskaitsetegevus, sealhulgas taastamisprojektid, tagaksid toimivad, jätkusuutlikud ökosüsteemid, mis on häiringutele ja keskkonnamuutustele vastupidavad (Török & Helm 2017). Taimed võivad kliimamuutustele reageerida kolmel moel: migreeruda sobivamate keskkonnatingimustega kasvukohtadesse, *in situ** adapteeruda või lokaalselt välja surra (Christmas *et al.* 2016). Taimede levimine (migratsioon) uutesse sobivatesse elupaikadesse saab toimuda õietolmu ja leviste leviku kaudu (Aavik & Helm 2017). Luues sobivaid maastikke soodustatakse potentsiaalselt kasulike genotüüpide liikumist, tagades omakorda taimede suutlikkuse toime tulla kaasneva keskkonnasurvega ning seega aidates kaasa nende kõrge evolutsioonipotentsiaali säilimisele (Aavik *et al.* 2017). Kuid, nagu eelpool mainitud, on paljud looduslikud ja pool-looduslikud kasvukohad tänapäeva maastikes äärmiselt killustunud, mis mõjutavad negatiivselt kohastumisvõimet soodustavate geenivariantide levikut (Aavik & Helm 2017). Seetõttu on populatsioonide *in situ* adaptiivse võimekuse säilitamine populatsioonide pikaajalise elujõulisuse taastamisel üha olulisema tähtsusega (Leimu *et al.* 2006).

Keskkonnatingimuste muutustele on võimalik vastata fenotüübilise plastilisusega, kus sama genotüüp võib viia fenotüübiliselt erinevate isenditeni. Kuid ka selle puhul võib peamiseks piiranguks kujuneda geneetilise varieeruvuse vähesus, ehituslikud iseärasused ja ressurside nappus, mis omakorda raskendab taastamist (Leimu *et al.* 2010). Seetõttu on geneetiline

mitmekesisus oluliseks indikaatoriks taimepopulatsioonide kohastumisvõime hindamisel. Veelgi enam, kasutades tuhandeid ja kümneid tuhandeid uudsete geneetiliste meetodite abil saadud ühenukleotiidseid polümorfisme ehk SNP-e (ingl *single nucleotide polymorphism*; vt tabel 1) ning genotüüpide ja keskkonnatingimuste korrelatsioone tuvastavaid analüüse (ingl *genotype environment association analysis*; Rellstab *et al.* 2015) on võimalik analüüsida populatsiooni geneetilist varieeruvust just uurijat huvitavate keskkonnatingimuste, nt kliimamuutusi indikeerivate tingimuste osas. Sellised analüüsid võimaldavad hinnata, kas populatsioonides leidub prognoositud kliimamuutustega kohanemiseks vajalikke geenivariante ehk allelele ning kas täielikuks kohanemiseks vajaminevad alleelisageduste muutused on realistlikud.

Rellstab *et al.* (2016) uurisid Šveitsis kolme tammeliigi *Quercus petraea*, *Q. pubescens*, *Q. robur* populatsioonide adaptiivset geneetilist varieeruvust. Nende eesmärgiks oli hinnata tammeliikide alleelide sageduste analüüsimise abil populatsioonide kohastumisvõimet, mis tagaks nende vastupidavuse tulevastele kliimamuutustele. Molekulaarsete markeritena kasutasid nad SNP-e. Nad tuvastasid mitmeid geenipiirkondi, mis osalevad populatsioonide vastuses kliimamuutustele. Selgus, et kohanemiseks vajalikud alleelisageduste muutused peaksid nii mõneski populatsioonis olema väga ulatuslikud, mis pole arvestades olemasolevat geneetilist varieeruvust realistlikud. Tammed on väga pikaealised (vt peatükk 1.3.3) ning kiirete kliimamuutuste poolt põhjustatud valikusurve ei jõua seetõttu viia populatsioone optimaalsete alleelisagedusteni. Seetõttu on äärmiselt oluline tagada geenivoolu hõlbustamise teel (kas siis seemnete või õietolmu leviku kaudu) adaptiivsete alleelide jõudmine sellistesse populatsioonidesse (Rellstab *et al.* 2016).

Eelmise tööga jõuti sarnastele järeldustele Austraalias läbiviidud uuringus, mis käsitles eukalüpti *Eucalyptus microcarpa* adaptiivset geneetilist mitmekesisust (Jordan *et al.* 2017). Leiti, et 26 uuritud populatsiooni iseloomustas väga erinev adaptiivne potentsiaal: mõnede populatsioonide olemasolev adaptiivne geneetiline mitmekesisus võimaldaks neil kliimamuutustele vastata, kuid mõnedes adaptiivne võimekus peaaegu et puudus. Nii selle kui ka eelmise uuringu tulemuste põhjal võib järelda, kui tähtis on identifitseerida lookused, mis on olulised adapteerumisel ning selgitada välja alleelid, mis on kasulikud vastavates keskkonnatingimustes. Vaid nii võime prognoosida, kuidas taimepopulatsioonid tulevikus võimalike keskkonnatingimuste muutustega toime tulevad ning sõltuvalt sellest valida

sobivaimad meetodid populatsioonide taastamise ja kaitse korraldamiseks (Rellstab *et al.* 2016).

2.2. Taimede *ex situ* säilitamise ja paljundamise mõju kohastumisvõimele

Taimepopulatsioonide taastamisel on oluline silmas pidada, kas taastamiseks kasutatavad taimed/seemned pärinevad tehistingimustes kasvatatud ja paljundatud populatsioonidest (*ex situ**; nt. botaanikaaias või seemnefirmas) või looduslikest (*in situ*). Tihtipeale tuleb kummagi lähenemisviisi puhul arvestada erinevate seaduspärasustega, mis võivad omakorda märkimisväärselt taastamise ja kaitse edukust mõjutada.

Sõltuvalt keskkonnatingimustest *ex situ* paljundamiskogudes võivad tehistingimustes viibitud põlvkondade jooksul toimuda mitmed elukäigutunnuste muutused. Näiteks leidsid Aavik *et al.* (2014), et kohalikku päritolu käokanni (*Lychnis flos-cuculi*) ning seemnefirmade seemnesegude külvamise teel taastatud populatsioonid iseloomustas erinev õitsemisaeg: kohaliku päritoluga looduslikest populatsioonidest pärit taimed õitsesid üldjuhul varem kui seemnefirmadest pärit külvamise teel taastatud populatsioonidest ja seemnefirmadest pärit seemnetest kasvatatud taimeseemned. Seda võib põhjendada sellega, et seemnefirmadest pärit taimedel pole niitmise näol valikusurvet varasemaks õitsemiseks ja seega ka varasemaks viljumiseks. Seevastu looduslikust populatsioonist pärit taimed seisavad silmitsi valikusurvega (nt. niitmine), mistõttu on nad adapteerunud varem õitsema, mis omakorda toetab varasemat seemnete valmimist. Loodusliku päritoluga taimed investeerisid rohkem sugulisse paljunemisse, sõltumata mulla niiskusest ja toitainete sisaldusest, seevastu seemnefirmadest pärit külvatud taimed jäid pigem vegetatiivseks.

Populatsioonide taastamiseks kasutatavate taimede kohastumus sõltub suuresti keskkonnatingimustest ehk valikusurve, mida taimed eelnevate põlvkondade jooksul tehistingimustes on kogunud, ning kultiveerimisajaloost. Samuti võivad *ex situ* kogudest pärinevad taimed reageerida erinevalt stressile, näiteks liikidevaheline konkurents ja põud, võrreldes looduslikku päritolu taimedega (Ensslin *et al.* 2015). Muutused võivad aset leida ka idanemisvõimes ja taimede soikeseisundi pikkuses (Ensslin *et al.* 2018). Näiteks leidsid Ensslin *et al.* (2018), et botaanikaaias hoitud ja paljundatud looduslike taimeliikide idanevusprotsent võrreldes samade liikide looduslikest populatsioonidest pärit taimedega oluliselt kasvas. Sellega aga kaasnes seemnete soikeseisundi oluline lühenemine. Seega tuleks arvestada, et

tehistingimustes paljundatud taimede abil taastatud populatsioone iseloomustab lühemaalisem seemnebank (vt peatükk 1.3.3).

Populatsioonide taastamine võib ebaõnnestuda, sest taastamisel on kasutatud liiga kaugelid mittelokaalseid genotüüpe. Genotüübid ei pruugi olla kohastunud taastatava kasvukoha keskkonnatingimustega või on kohastunud hoopis tehistingimustega, kus taastamiseks kasutatavaid seemneid on paljundatud. Samuti võidakse uute mittelokaalsete genotüüpide sissetoomisel tõrjuda välja juba kohapeal olevad genotüübid (McKay *et al.* 2005). Külvisemmet valides tuleks seega lähtuda põhimõttest, et doonorpopulatsioonide keskkonnatingimused võiksid olla võimalikud sarnased taastamiskohaga. Sellega kindlustatakse, et sissetoodud genotüübid on paremini adapteerunud uute kasvutingimustega, vähendades ühtlasi ka kaugristumissurutise tõenäosust (Frankham *et al.* 2011; vt peatükk 1.1.3). Hindamaks, kas taastamiseks kasutatavad taimed/seemned sobivad taastatava piirkonnaga, on seni kasutatud neutraalseid geneetilisi markereid ning ümberistutamise katseid (Pickup *et al.* 2012), kuid arvatavasti võimaldab geneetiliste meetodite areng peatselt kasutada ka sobivaid adaptiivseid geneetilisi markereid (sarnaselt eelpool mainitud töödele, kus hinnati populatsioonide võimet kohastuda kliimamuutustega).

3. Taksonoomiliste üksuste ja hübriidiseerumise tuvastamine geneetiliste meetodite abil

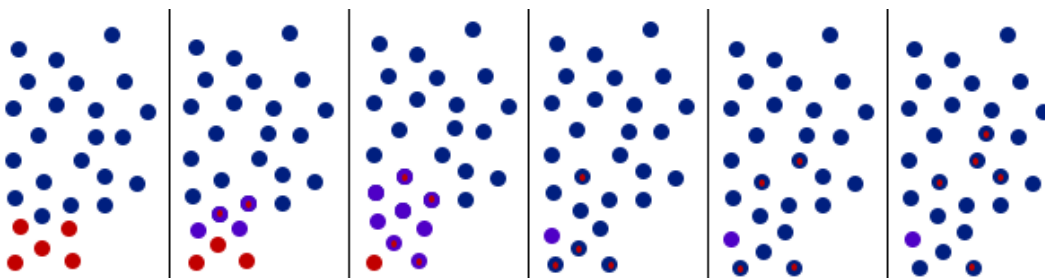
Taksonoomiliste üksuste tuvastamisel on looduskaitsebioloogias suur roll, kuna see võimaldab paremini planeerida elurikkuse kaitset. Mõne haruldasema taksoni märkamata ja tuvastamata jätmine võib lõpuks viia selle taksoni väljasuremiseni. Eriti oluline on taksonoomilise kuuluvuse mõistmine taastamisel, kus valede liikide või erineva kohastumusega alamliikide/populatsioonide ristamine võib kaasa tuua taastamise ebaõnnestumise. Teine oluline looduskaitsebioloogia küsimus on taksonite omavaheline hübriidiseerumine, mis inimtegevuse tõttu on muutumas üha olulisemaks liikide kadumise põhjuseks. See omakorda raskendab ka taksonoomiliste probleemide lahendamist (Allendorf *et al.* 2012). Käesolevas peatükis antakse põgus ülevaade hübriidiseerumise olemusest ja sellega seotud probleemide tuvastamisest ning sellest, kuidas kasutatakse geneetilisi meetodeid kaitset vajavate taksonite tuvastamisel.

3.1. Hübriidiseerumise tuvastamine

Traditsiooniliselt on nii hübriidiseerumist kui ka taksonoomilisi ühikuid tuvastatud peamiselt isendite fenotüübi*/morfoloogiliste tunnuste varieerumise põhjal. Samas ei pruugi fenotüüp aga piisava täpsusega peegeldada taksonite tegelikke fülogeneetilisi suhteid ja taksonoomilist kuuluvust. Morfoloogiliste tunnuste abil tuvastamisel eeldatakse, et hübriidid esindavad morfoloogiliste tunnuste poolest oma vanemtaksonite fenotüüpilisi n-ö. keskmisi, kuid ka see ei pruugi paika pidada (Ducarme & Wesselingh 2005). Eriti raskeks võib osutuda nende järglaste identiteedi tuvastamine, kes on hübriidi ja ühe vanemtaksoni järeltulijad (kui on aset leidnud introgressioon), sest ühe vanemtaksoni fenotüüp (ja genotüüp) on isendis suuremal määral esindatud erinevalt teisest vanemtaksonist. Samuti on mõne hübriidse taimeliigi puhul täheldatud, et introgressioon võib viia nende suurema morfoloogilise varieeruvuseni, mis omakorda raskendab tuvastamist veelgi (Kaljund & Leht 2013). Sellistel puhkudel tuleks lisaks morfoloogilistele ja ka keskkonnatunnustele appi võtta geneetilised meetodid. Enamasti on selliste probleemide lahendamisel kasutatud neutraalsetel molekulaarsetel geneetilistel markeritel põhinevaid analüüse (nt. allosüümid, mikrosatelliidid ja spetsiifilised DNA-järjestused; tabel 1), mis kombineerituna erinevate fülogeneetiliste meetoditega võimaldavad

anda ülevaatlíkuma ning tõepärasema vastuse probleemsete taksonite ning hübriidiseerumise tuvastamisel (Edwards *et al.* 2008).

Taimeriigis on hübriidiseerimine võrdlemisi laialt levinud (Whitney *et al.* 2010; joonis 5). See on oluline looduslik protsess, millega kaasneb ka uute liikide evolutsioneerumine (Allendorf *et al.* 2012). Uue liigi moodustamise võib anda tõuke ka hübriididel avalduv heteroos, mille tagajärjel on nad paremini kohastunud oma elukeskkonnaga (Primack *et al.* 2008). Siiski ei esine hübriidiseerumist kõigil taimeliikidel ühtlaselt ning juhuslik hübriidiseerumine on teatud määral sagedamini levinud kindlates perekondades. Samuti ei pruugi mõned liigid hübriidiseeruda looduses (Whitney *et al.* 2010). Paraku on protsess üha enam inimtekkeline, mis on selle muutnud üheks oluliseks looduskaitsebioloogia probleemiks (Abbott *et al.* 2016). Sellisele sagedasele hübriidiseerumisele on kaasa aidanud paljud inimtegevusega seotud tegurid: taime- ja loomaliikide introductseerimine piirkondades, kus neid looduslikult ei leidu, kasvukohtade killustumine ning kasvukohatingimuste looduslike tingimuste muutmine. Probleemi teeb raskemaks ka eelpool mainitud asjaolu, et hübriide ning oma vanemtaksoniga tagasiristunud (introgressioon) isendeid on sageli väga raske tuvastada, nii et geneetiliste markerite kasutamine on puhuti ainsaks võimaluseks nende kahe protsessi tuvastamisel (Ducarme & Wesselingh 2005).



Joonis 5. Skemaatiline joonis, mis kujutab hübriidiseerumise kulgu tavalise ja haruldase liigi vahel. Haruldase liigi (punane ring) hübriidiseerumisel tavalisega (sinine ring) võivad säilida tema geenivariandid populatsioonis veel mõne põlvkonna jooksul (sinise ringi sees punane täpp; Holderegger & Segelbacher 2016), kuid tuvastatavad võivad need muutused ning muutuste määr sageli olla vaid geneetiliste meetodite abil.

Hübriidiseerimine tavaliste ja ohustatud sõsarliikide seas kujutab endas teist olulist probleemi looduskaitstes, sest see võib kaasa tuua haruldasemate liikide kadumise (Abbott *et al.* 2016; joonis 5). Kook *et al.* (2015) uurisid oma töös haruldase sinise kopsurohu (*Pulmonaria angustifolia*) ja tavalisema tumeda kopsurohu (*Pulmonaria obscura*) geneetilist mitmekesisust.

Leiti, et kõik uuritud sinise kopsurohu populatsioonid sisaldasid tumedalt kopsurohult pärit geneetilist materjali, viidates haruldase sinise kopsurohu hübriidiseerumisele tumeda kopsurohuga. Võimalikule hübriidiseerumisele andsid autorid aga mitu põhjendust. Esiteks, Eestis asuvad sinise kopsurohu populatsioonid on väikesed ning üksteisest isoleeritud, mistõttu tõenäosus ristuda samast liigist pärit isenditega on palju väiksem kui ristumine tavalisema sõsarliigiga. Teiseks, tume kopsurohi võis olla ka sinise kopsurohu esivanem.

Tõenäoliselt pole hübriidiseerumise eest kaitstud ka meie teine haruldus, endemne saaremaa robirohi (*R. osiliensis*). Talve *et al.* (2014a) tuvastasid, et mõnedes liigi populatsioonides leidis selliseid muidu morfoloogiliselt saaremaa robirohtu meenutavaid isendeid, kes olid aga geneetiliselt sarnased hoopis saaremaa robirohu sõsarliigi suure robirohuga (*R. angustifolius*). Hübriidiseerumine pole robirohtude perekonnas haruldane (Ducarme & Wesselingh 2005), mistõttu võib eeldada, et ka saaremaa robirohi moodustab hübriide oma sagedasemate perekonnakaaslastega. Kui sagedasti seda aga ette tuleb ning kas see kujutab ohtu meie haruldase liigi püsijäämisele, peaks selgitama järgnevad geneetilised uuringud.

3.2. Geneetiliste meetodite kasutamine kaitset vajavate taksonite tuvastamisel

Kaitset vajavate taksonite (eeskätt liikide ja liigisiseste ühikute) defineerimine on väga oluline eeldus looduskaitsetegevuse korraldamiseks ja hindamiseks. Taksonoomiline selgus hõlbustab kaitsetegevuse planeerimise seadusliku raamistiku vormistamist. Siiski võib kaitset vajavate taksonite tuvastamine kujuneda üpris keerukaks juba ainuüksi erinevate liigidefinitatsioonide tõttu (erinevatel liigidefinitatsioonidel käesolevas töös eraldi ei peatuta, kuna selle kohta on olemas palju lisamaterjali (Allendorf *et al.* 2012)). Geneetiliste meetodite kasutuselevõtt on nii liikide kui ka liigisiseste taksonite tuvastamise teinud oluliselt lihtsamaks. Samas peitub vaid ühele andmestikule (nt. geneetilisele andmestikule) toetudes oht, et kunstlikult tekitatakse liiga palju erinevaid kaitset vajavaid ühikuid, mis omakorda võib viia rahaliste ressursside mittepõhjustatud kasutamiseni. Seetõttu tuleks kombineerida erinevaid andmeid: geneetilisi, morfoloogilisi ja keskkonnaandmeid. Kasuks tuleb ka erinevate molekulaarsete markerite kombineerimine, kuna erinevad markerid võivad viia erinevate järeldusteni (Allendorf *et al.* 2012).

Väär taksonoomiline määratlus või ühtse arusaama puudumine võib looduskaitsetegevuse korraldamist takistada. Ühe näitena võib tuua nõmmnelgi (*Dianthus arenarius L.*), kelle

alamliike on morfoloogiliste tunnuste abil raske eristada ning seetõttu on kogu liigikompleks koos alamliikidega, s.h. Euroopa Liidu loodusdirektiivi alusel kaitset vajav haruldane alamliik *D. arenarius ssp. arenarius*, Eestis võetud kaitse alla (Oja *et al.* 2016). Siiski pole selge kas, kus ja mil määral haruldasemat alamliiki Eestis esineb. Küsimuse lahendamiseks ning soovitude andmiseks haruldasema alamliigi efektiivsemaks kaitseks, viidi hiljaaegu läbi nõmmnelgi oletatavate alamliigi populatsioonide geneetiline analüüs. Pihu (2017) töös selgus, et mikrosatelliitide alusel nõmmnelgi alamliigid siiski ei eristu ning silmaga nähtavatest morfoloogilistest tunnustest aitavad alamliike eristada vaid mõned. Võimalik, et esineb geeniiret ka alamliikide vahel, mis omakorda takistab haruldasema ja tavalisema alamliigi vahelise piiri tõmbamist.

Enamik soontaimede taksonoomilisi määratlusi põhineb herbaariumieksemplaridel, mis sageli pärinevad küllalt ammu ajast. Need ei pruugi olla aga vastavuses kaasaegsemate morfoloogiliste määratlustega ning võivad vajada geneetiliste meetodite abil täiendusi ja parandusi (Marczewski *et al.* 2016). Perekond robirohi (*Rhinanthus*) on tuntud oma keerulise taksonoomia poolest liigisisese morfoloogilise varieeruvuse ja ka üpris sagedase hübriidiseerumise tõttu (Ducarme & Wesselingh 2005; Ducarme *et al.* 2010). Saaremaa robirohtu (*R. osiliensis*) peeti tükk aega ühe teise robirohu, rumeelia robirohu (*R. rumelicus*) alamliigiks, kuigi nii nende taksonite geograafiline levik, erinevused kasvukoha eelistustes kui ka mõned morfoloogilised tunnused andsid alust arvata, et saaremaa robirohi võiks olla omaette liik. Samuti tekkis kahtlus, et hiljaaegu Gotlandil leitud robirohu isendid kuuluvad saaremaa robirohuga samasse taksonisse. Nendele küsimustele vastamiseks kasutati isoensüüme ja mikrosatelliitmarkereid. Molekulaarne analüüs näitas, et saaremaa robirohi eraldus selgesti nii rumeelia robirohust kui ka Gotlandil leitud robirohuisenditest. Tulemused annavad alust arvata, et saaremaa robirohu näol on tegu endemiga, mis välja kujunenud just Saaremaa allikasoodes (Talve *et al.* 2014a; b).

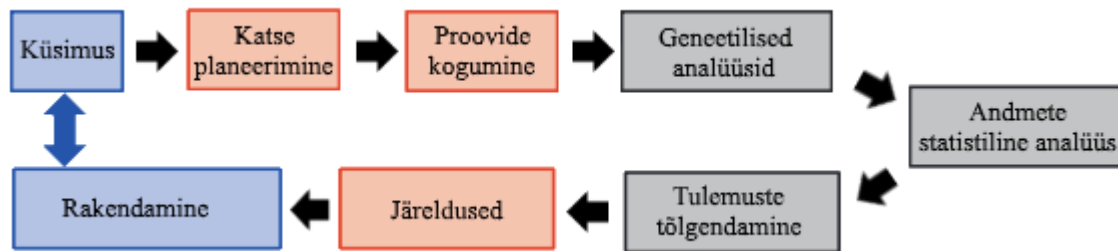
4. Looduskaitsegeneetikas enim kasutatavad meetodid

Geneetilise mitmekesisuse all käsitletakse enamasti liigisisest DNA järjestuste ehk alleelide erinevust (Frankham *et al.* 2004). Taimepopulatsioonide püsijäämine on otseselt seotud geneetilise mitmekesisusega. Esiteks, kõrgem geneetiline mitmekesisus tagab parema kohasuse (Leimu *et al.* 2006; vt peatükk 1). Pikas perspektiivis tagab geneetiline mitmekesisus ka parema evolutsioonilise potentsiaali ehk võime muutuvate keskkonnatingimustega toimetulekuks (Leimu *et al.* 2010; vt peatükk 2). Seetõttu on geneetilise mitmekesisuse taastamine ja püsijäämine üks looduskaitse olulisi eesmärke.

Nagu eelpool toodud peatükid näitavad, võimaldavad geneetilised meetodid lisaks geneetilise mitmekesisuse hindamisele vastata paljudele sellistele looduskaitseolulistele küsimustele, millele traditsioonilised ökoloogilised meetodid vastust ei leia. Tuleb aga silmas pidada, et ka geneetilised meetodid ei pruugi alati lõplikke vastuseid anda ning parima tulemuseni jõutakse, kui kombineeritakse erinevaid meetodeid ja lähenemisi. Kui aga on tekkinud vajadus geneetilise uuringu järele, on väga oluline hoolikalt läbi mõelda konkreetsed uurimisküsimused ja valida sobivad meetodid, et tulemused võimaldaksid vastata looduskaitset huvitavatele küsimustele. Alljärgnevalt on toodud põgus ülevaade looduskaitsegeneetilise uuringu etappidest (joonis 6) ning mõnedest looduskaitsegeneetilistes töodes enam kasutatavatest meetoditest, kuid kindlasti pole ülevaade ammendav ning sobiva geneetilise meetodi ja markeri valik sõltub konkreetsest uurimisküsimusest.

Looduskaitsegeneetiline uuring algab küsimuse püstimisest, mis leiab aset looduskaitsepraktikute ja -teadlaste koostöös (joonis 6). Väga oluline on katse ja proovide kogumise planeerimise etapp, mil otsustatakse, kui palju proove ja kui paljudest kohtadest/populatsioonidest neid kogutakse. See sõltub suuresti aga uurimisküsimusest ning kasutatavatest markeritest (vt peatükk 4.1). Näiteks, kui eesmärgiks on võetud hinnata populatsioonisisest geneetilist mitmekesisust mikrosatelliitmarkerite abiga, tuleks populatsiooni kohta proove koguda umbes 30-lt isendilt; SNP-de kasutamisel piisaks aga 20-st proovist populatsiooni kohta. Ka populatsioonide arv peab olema statistiliselt piisav, et hilisemad tulemused oleksid usaldusväärsed. Proovide kogumisele järgnevad edasised laboratoorsed tööd ja geneetilised uuringud, mis võimaldavad saada vastuse huvipakkuvale uurimisküsimusele. Andmete analüüsi ning tulemuste tõlgendamise käigus selgitatakse välja

vastused esitatud küsimustele ning tuuakse esile võimalikud murekohad (nt. kannatab populatsioon lähi- või kaugristumise all). Tulemusi võetakse arvesse ning püütakse teha paremad järeldused/otsused arvestades nii looduskaitsepraktikute ja teadlaste seisukohtadega taimepopulatsioonide jätkusuutliku kaitse ja taastamise korraldamisel (joonis 6). Ka järelduste põhjal elluviidud kaitsetegevuse efektiivsust võib geneetiliste meetodite abil seirata.



Joonis 6. Looduskaitsegeneetilise uuringu tegevusetappide üksikasjalik kirjeldus. Erinevate kastide taustavärvid tähistavad asjaosaliste tegevust (sinine kast: looduskaitsepraktikud, punane: looduskaitsepraktikute ja -teadlaste koostöö, hall: teadlased). Kahesuunaline sinine joon kehtib siis, kui soovitakse edaspidi geneetiliste meetodite abil hinnata ka rakendamise mõju looduskaitsele tegevusele. Joonis on eestikeelseks kohandatud väljaande ‘Naturschutzgenetik. Ein Handbuch für die Praxis’ põhjal (Holderegger & Segelbacher 2016).

4.1. Looduskaitsegeneetilistes uuringutes sagedamini kasutatavad geneetilised markerid

Looduskaitsegeneetilistes uuringutes kasutatakse erinevaid geneetilisi markereid (tabel 1), kuna kogu genoomi järjestamine pole rakendusuuringutes enamasti vajalik ega ka rahaliselt võimalik. Milliseid markereid konkreetses uuringus kasutatakse, sõltub uurimisküsimusest, aga ka olemasolevatest laboratorsetest ja rahalistest võimalustest. Mikrosatelliidid on looduskaitsegeneetilistes töodes olnud üheks enamkasutatavaks markeritüübiks. Nende abil on võimalik hinnata populatsioonide geneetilist mitmekesisust (peatükk 1.1), populatsioonidevahelist geenivoolu (peatükk 1.2), taksonoomilisi erisusi (peatükid 3.1 ja 3.2) ja muid parameetreid (vt tabel 1).

Geneetilised meetodid on aga viimastel aastatel märkimisväärselt arenenud. Kui looduskaitsegeneetilistes töodes kasutatud mikrosatelliitmarkerite arv varieerub sõltuvalt liigist ja meetodikast viiest mõnekümneni, siis uued geneetilised meetodid võimaldavad kirjeldada DNA erinevusi tuhandete üksiknukleotiidsete polümorfismide abil (SNP). Kuna erinevalt

mikrosatelliitidest, mis asuvad reeglina DNA mittekodeerivas piirkonnas, võivad SNP-d paikneda ka DNA kodeerivas regioonis. Nende laialdasem kasutamine on teinud võimalikuks vastamise kohastumisvõimega seotud küsimustele (peatükk 2). Paraku on aga SNP-ide kasutamine looduskaitsegeneetilistes töödes veel üsna harv, hoolimata palju laiemast küsimuste ringist, millele nende kasutamine vastata võimaldaks (Driscoll *et al.* 2014; Puckett 2017). Lisaks mikrosatelliitidele ja SNP-idele on üsna laialdaselt kasutatud ka muid markereid, nt. AFLP-sid (ingl *amplified fragment length polymorphisms*), mille kasutamine on võrreldes eelnevatega odavam, kuid mille puhul ei pruugi erinevates laborites/uuringutes saadud tulemused olla võrreldavad. Sõltuvalt uurimisküsimusest (nt. keskkonna-DNA analüüs) kasutatakse ka liigispetsiifilisi DNA järjestusi, mille puhul liikide tuvastamiseks saadud järjestusi võrreldakse juba teadaolevate andmebaasides olevate liigispetsiifiliste järjestustega (ingl *DNA-barcoding*), ja muid markereid (Holderegger & Segelbacher 2016; vt tabel 1).

Tabel 1. Ülevaade enim kasutatavatest geneetilistest markeritest looduskaitsegeneetikas. Tabel on eestikeelseks kohandatud väljaande "Naturschutzgenetik. Ein Handbuch für die Praxis" põhjal (Holderegger & Segelbacher 2016).

Geneetiline marker	Genoom	Variatsiooni tüüp	Tüüpiline arv markereid/uuring	Rakenduse näited	Märkused
Mikrosatelliidid	Peamiselt rakutuumas	Lühikesed korduvad 1-6 nukleotiidsed motiivid	10-20	Geneetiline mitmekesisus, geneetilised erinevused geneetiline kaugus, geenivool, geneetiline struktuur, hübriidiseerumine, paljunemissuhted/lähiristumine, populatsioonisuuruse kõikumised	Kõige enam kasutatud markeritüüp looduskaitsegeneetikas
DNA järjestused	Peamiselt mitokondris ja kloroplastis	Nukleotiidide järjestused konkreetse lookuse või geeni piires	1-10	Taksonoomia, liikide sugulusanalüüs	Järjestuste sekveneerimisel põhinevad meetodid
SNP-id (ühenukleotiidsed polümorfismid)	Peamiselt rakutuumas	2 (-4) erinevat nukleotiidi lookuse kohta	1 000- > 1 000 000	Geneetiline mitmekesisus, geneetiline erinevuse, geneetiline kaugus, geenivool, geneetiline struktuur, hübriidiseerumine, paljunemissuhted/lähiristumine, populatsioonisuuruse kõikumised, geneetiline monitooring	Järjestuste sekveneerimisel põhinevad meetodid
AFLP-d (amplifitseeritud fragmentide pikkuspolümorfism)	Peamiselt rakutuumas	DNA järjestuste olemasolu/puudumine	100- 1000	Geneetiline mitmekesisus, geneetiline erinevus, geneetiline kaugus, geneetiline struktuur	DNA-järjestuste asukoht genoomis ei ole teada, heterosügootsust ei saa hinnata, kõige vähem kasutatav markeritüüp

4.2. Geneetilise analüüsi meetodid

Populatsiooni geneetilist mitmekesisust on võimalik kirjeldada mitmete erinevate parameetrite abil. Enim kasutatakse selliseid indekseid nagu polümorfsete lookuste osakaal, alleelide arv, eeldatud (H_0 ; ingl *expected heterozygosity*) ja vaadeldud heterosügootsus (H_E ; ingl *observed heterozygosity*) ning lähiristumiskoeffitsient (Frankham *et al.* 2004). Polümorfset geenid (rohkem kui üht alleeli omavad geenid) peegeldavad isendite heterosügootide osakaalu populatsioonis (Primack *et al.* 2008). Eeldatud heterosügootsus väljendub heterosügootide osakaalus vastavalt Hardy-Weinbergi tasakaalule*, vaadeldud heterosügootsus aga tegelikku heterosügootide osakaalu. Kõrvalekalded Hardy-Weinbergi tasakaalust võivad osutada mitmetele looduskaitseliselt olulistele protsessidele, nt. populatsiooni lähiristumisele, killustumise, geenivoolu ja selektsiooni mõjule (Frankham *et al.* 2004).

Populatsioonide geneetilise erinevuse hindamiseks kasutatakse samuti mitmeid erinevaid meetodeid. Geneetilise erinevuse indikaatoreid aga kasutatakse sageli populatsioonidevahelise geenivoolu hindamiseks. Üks sagedasemaid geneetilise erinevuse indekseid on geneetiline diferentseeritus (ingl *genetic differentiation* F_{ST}). Geenivoolu hindamiseks kasutatakse ka alleelide koosseisu ja sageduse põhjal tehtavat struktuurianalüüsi (Pritchard *et al.* 2000). Sama meetodit võib kasutada taksonitevaheliste erinevuste leidmiseks ja hübriidiseerumise tuvastamiseks (Talve *et al.* 2014b). Lisaks saab populatsioonide geneetilise erinevust ja struktuuri analüüsimisele hinnata isendite ja genotüüpide levikut spetsiifiliste testide (ingl *assignment tests*; Manel *et al.*, 2005; joonis 2) ja sugulustestide (n-ö. isadus- ja emadustest) abil. Samuti aitavad uuritavate taksonite omavahelisi erinevusi ning evolutsioonilisi seoseid selgitada fülogeneesipuud (Frankham *et al.* 2010). Eeldatavasti muutuvad peatselt tavalisemaks ka maastikugeneetika meetodid, mis võimaldavad tuvastada geneetilist varieerumist taimede kohastumisvõimet peegeldavates genoomipiirkondades (vt peatükk 2.1).

Nagu eelpool käsitletud uurimustes selgub, on erinevad geneetilised analüüsid aidanud leida vastuseid paljudele looduskaitseliselt olulistele probleemidele. Ometi on mitmed ülevaattetööd näidanud, et geneetiliste meetodite potentsiaal looduskaitses pole veel ulatuslikumat kasutust

leidnud, kuigi geneetilise info kaasamine taastamis- ja kaitsetegevuse planeerimisse tõstab märkimisväärselt kaitsetegevuse edukust (Mijangos *et al.* 2015).

Kokkuvõte

Taimepopulatsioonide kaitsel ja taastamisel on oluline säilitada populatsioonide kõrge geneetiline mitmekesisus, kasvukohtade sidusus ning adaptiivne potentsiaal, et tagada populatsioonide toimetulek muutuvate keskkonnatingimustega. Neid aspekte tuleks vaadelda koos, sest vaid nii on populatsioonide kaitse ja taastamine jätkusuutlik ja edukas. Antud bakalaureusetöös anti ülevaade sellest, kuidas aitab looduskaitsegeneetika neid erinevaid eesmärke saavutada.

Üha täpsemate geneetiliste markerite/meetodite areng annab võimaluse paremini mõista erinevaid ökoloogilisi protsesse, seaduspärasusi ja seoseid, mis taimepopulatsioonide kaitset ja taastamist mõjutavad. Geneetiliste uuringute abil suudame tuvastada silmale nähtamatut. Tänapäeva üks olulisemaid geneetilist mitmekesisust negatiivselt mõjutavaid tegureid on kasvukohtade killustumine. Olulist rolli geneetilise mitmekesisuse säilimisel mängib populatsiooni suurus, mida kasvukohtade killustatus on valdavalt negatiivselt mõjutanud. Väikeseid populatsioone ohustavad võrreldes suuremate populatsioonidega kahanenud geneetiline varieeruvus ja suurenenud lähiristumine ning demograafiline juhuslikkus. Tundlikus killustumise poolt põhjustatud geneetilise mitmekesisuse muutuste suhtes sõltub aga erinevatest tunnustest, sealhulgas paljunemisviisist ning haruldusest. Katsed populatsioone geneetiliselt rikastada võivad ebaõnnestuda, sest teadmatuses rikastatakse geneetiliselt erinevaid taksoneid, mis võib kaasa tuua järglaste kohasuse languse.

Taastamistööde planeerimisel on oluline hinnata ka taimede võimet kohastuda taastatava kasvukoha keskkonnatingimustega kui ka käimasolevate kliimamuutustega. Tänu geneetiliste meetodite kiirele arengule on kohastumisvõime hindamine üha enam võimalik ka looduskaitsegeneetilistes uuringutes. Geneetiline varieeruvus ja sellega seotud kohastumisvõime sõltub sellest, kas taastamiseks kasutatavad taimed on paljundatud kunstlikes (*ex situ*) või looduslikes (*in situ*) tingimustes.

Eduka looduskaitsetegevuse eelduseks on taksonoomiline selgus, mida aitavad saavutada lisaks morfoloogial põhinevatele meetoditele geneetilised uuringud. Üha suuremaks murekohaks on looduskaitstes kujunemas inimtegevuse poolt põhjustatud hübriidiseerumine, mille tulemusena

võime mitmeid liike kaotada. Ka hübriidiseerumisprotsesside tuvastamisel on abiks geneetilised uuringud. Käesolevale tööle tuginedes võib järeldada, et geneetilisi meetodeid tuleks rakendada senisest julgemalt, sest kombineerides geneetilisi meetodeid traditsiooniliste ökoloogiliste meetodite, välivaatluste ja katsetega on võimalik vastata põhjalikumalt ning senisest suuremale hulgale looduskaitsele olulistele küsimustele.

Summary

Plant population restoration and conservation needs to preserve populations with higher genetic diversity, related adaptive potential and structural as well as functional connectivity between plant populations to ensure that plant populations can cope with changing environmental conditions. These aspects should be considered together, because only this way it is possible to safeguard that restoration and conservation activities will be sustainable and successful. This bachelor thesis gives an overview, how conservation genetic tools help to achieve these different goals.

Rapid development of more accurate genetic methods provides better understanding about different ecological processes, laws and relationships potentially affecting plant population restoration and conservation. Genetic tools help to determine the invisible part of these patterns and processes. Habitat loss and fragmentation are among the most important factors having a negative impact on genetic diversity of plant populations. Habitat fragmentation often leads to small population size. Smaller population are affected by decreased genetics variation, increased inbreeding and demographical fluctuations. However, the response of plant populations to genetic consequences of fragmentation may also depend upon plant characteristics, such as reproduction mode and rarity. Attempts to genetically rescue populations by adding novel genotypes to genetically impoverished populations may fail due to not accounting for potential outbreeding effects.

When planning restoration activities, it is important to consider the potential of plants to adapt to the environmental conditions of the restored habitat as well as to changing climate. Due to rapid advances in molecular tools, assessing adaptive potential is becoming more feasible in conservation genetic studies. Genetic diversity of restored populations and related adaptive potential may depend on whether plants originate from *ex situ* collections or *in situ* conditions.

Successful nature protection requires taxonomical clarity, which is easier to reach with combining methods based morphological and genetic approaches. Hybridisation due to human activities is an increasing problem in conservation and, as a consequence, rare taxons may disappear. Genetic tools are also very helpful in identifying hybridisation processes. It can be concluded that genetic

methods should be implemented more widely for conservation purposes, because combining genetic method with traditional ecological observations and experiments will give us more in-depth answers to a wider range of important questions in nature protection.

Tänuavaldused

Sooviksin südamest tänada oma juhendajat Tsipe Aavikut heade nõuannete, kannatlikkuse ja toetuse eest töö valmimisel.

Kasutatud kirjandus

- Aavik, T., Edwards, P.J., Holderegger, R., Graf, R. & Billeter, R. 2012. Genetic consequences of using seed mixtures in restoration: A case study of a wetland plant *Lychnis flos-cuculi*. *Biol. Conserv.* 145: 195–204.
- Aavik, T. & Helm, A. 2017. Restoration of plant species and genetic diversity depends on landscape-scale dispersal. Wiley/Blackwell.
- Aavik, T., Holderegger, R. & Bolliger, J. 2014. The structural and functional connectivity of the grassland plant *Lychnis flos-cuculi*. *Heredity (Edinb)*. 112: 471–478.
- 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. *J. Appl. Ecol.* 50: 395–403.
- Aavik, T., Talve, T., Thetloff, M., Uemaa, E. & Oja, T. 2017. Genetic consequences of landscape change for rare endemic plants – A case study of *Rhinanthus osiliensis*. *Biol. Conserv.* 210: 125–135. Elsevier.
- Abbott, R.J., Barton, N.H. & Good, J.M. 2016. Genomics of hybridization and its evolutionary consequences. *Mol. Ecol.* 25: 2325–2332. Wiley/Blackwell.
- 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. *Mol. Ecol.* 17: 5177–5188. Wiley/Blackwell.
- Allendorf, F., Luikart, G. & Aitken, S.. 2012. Conservation and the Genetics of Populations. Wiley-Blackwell.
- Busch, J.W. 2005. Inbreeding depression in self-incompatible and self-compatible populations of *Leavenworthia alabamica*. *Heredity (Edinb)*. 94: 159–165.
- Busch, V. & Reisch, C. 2016. Population size and land use affect the genetic variation and performance of the endangered plant species *Dianthus seguieri ssp. glaber*. *Conserv. Genet.* 17: 425–436. Springer Netherlands.
- Charlesworth, D. & Willis, J.H. 2009. The genetics of inbreeding depression. *Nat. Rev. Genet.* 10: 783–796.
- Christmas, M.J., Breed, M.F. & Lowe, A.J. 2016. Constraints to and conservation implications for climate change adaptation in plants. *Conserv. Genet.* 17: 305–320.

- Couvet, D. 2002. Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. *Conserv. Biol.* 16: 369–376. Wiley/Blackwell.
- Csencsics, D. & Gugerli, F. 2017. Forum für Wissen 2017. Naturschutzgenetik. Eidgenössische Forschungsanstalt WSL Berichte, Birmensdorf.
- DiLeo, M.F., Holderegger, R. & Wagner, H.H. 2018. Contemporary pollen flow as a multiscale process: evidence from the insect-pollinated herb, *Pulsatilla vulgaris*. *J. Ecol.*, Wiley/Blackwell.
- DiLeo, M.F., Rico, Y., Boehmer, H.J. & Wagner, H.H. 2017. An ecological connectivity network maintains genetic diversity of a flagship wildflower, *Pulsatilla vulgaris*. *Biol. Conserv.* 212: 12–21.
- Driscoll, D.A., Banks, S.C., Barton, P.S., Ikin, K., Lentini, P., Lindenmayer, D.B., *et al.* 2014. The trajectory of dispersal research in conservation biology. Systematic review. *PLoS One* 9: e95053. Public Library of Science.
- Ducarme, V., Vrancken, J. & Wesselingh, R.A. 2010. Hybridization in Annual Plants: Patterns and Dynamics During a Four-Year Study in Mixed *Rhinanthus* Populations. *Folia Geobot.* 45: 387–405. Springer Netherlands.
- Ducarme, V. & Wesselingh, R. 2005. Detecting hybridization in mixed populations of *Rhinanthus minor* and *Rhinanthus angustifolius*. *Folia Geobot.* 40: 151–161. Springer Netherlands.
- Edmands, S. 2007. Between a rock and a hard place: Evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. *Mol. Ecol.* 16: 463–475. Wiley/Blackwell.
- Edwards, C.E., Soltis, D.E. & Soltis, P.S. 2008. Using patterns of genetic structure based on microsatellite loci to test hypotheses of current hybridization, ancient hybridization and incomplete lineage sorting in *Conradina* (*Lamiaceae*). *Mol. Ecol.* 17: 5157–5174. Wiley/Blackwell.
- Ensslin, A., Tschöpe, O., Burkart, M. & Joshi, J. 2015. Fitness decline and adaptation to novel environments in *ex situ* plant collections: Current knowledge and future perspectives. *Biol. Conserv.* 192: 394–401. Elsevier.
- Ensslin, A., Van de Vyver, A., Vanderborgh, T. & Godefroid, S. 2018. *Ex situ* cultivation entails high risk of seed dormancy loss on short-lived wild plant species. *J. Appl. Ecol.* 55: 1145–1154. Wiley/Blackwell.

- Fenster, C.B. & Galloway, L.F. 2000. Inbreeding and outbreeding depression in natural populations of *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae). *Conserv. Biol.* 14: 1406–1412.
- Forester, B.R., Jones, M.R., Joost, S., Landguth, E.L. & Lasky, J.R. 2016. Detecting spatial genetic signatures of local adaptation in heterogeneous landscapes. *Mol. Ecol.* 25: 104–120.
- Frankham, R. 2016. Genetic rescue benefits persist to at least the F3 generation, based on a meta-analysis. *Biol. Conserv.* 195: 33–36. Elsevier.
- Frankham, R., Ballou, J.D. & Briscoe, D.A. 2004. *A Primer of Conservation Genetics*. Cambridge University Press.
- Frankham, R., Ballou, J.D. & Briscoe, D.A. 2010. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Eldridge, M.D.B., Lacy, R.C., Ralls, K., Dudash, M.R., *et al.* 2011. Predicción de la Depresión por Exogámica. *Conserv. Biol.* 25: 465–475.
- 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. *Sci. Adv.* 1. American Association for the Advancement of Science.
- Heinaru, A. 2012. *Geneetika. Õpik kõrgkoolile*. Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu.
- Helm, A., Hanski, I. & Pärtel, M. 2006. Slow response of plant species richness to habitat loss and fragmentation. *Ecol. Lett.* 9: 72–77.
- Helm, A., Oja, T., Saar, L., Takkis, K., Talve, T. & Pärtel, M. 2009. Human influence lowers plant genetic diversity in communities with extinction debt. *J. Ecol.* 97: 1329–1336. Wiley/Blackwell.
- Helsen, K., Jacquemyn, H., Hermy, M., Vandepitte, K. & Honnay, O. 2013. Rapid Buildup of Genetic Diversity in Founder Populations of the Gynodioecious Plant Species *Origanum vulgare* after Semi-Natural Grassland Restoration. *PLoS One* 8: e67255. Public Library of Science.
- Holderegger, R., Buehler, D., Gugerli, F. & Manel, S. 2010. Landscape genetics of plants. *Trends Plant Sci.* 15: 675–683.
- Holderegger, R., Kamm, U. & Gugerli, F. 2006. *Adaptive vs. neutral genetic diversity: Implications for landscape genetics*. Kluwer Academic Publishers.
- Holderegger, R. & Segelbacher, G. 2016. *Naturschutzgenetik. Ein Handbuch für die Praxis*. Haupt Verlag, Bern.

- Honnay, O. & Jacquemyn, H. 2007. Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. *Conserv. Biol.* 21: 823–831. Wiley/Blackwell.
- Hooftman, D.A.P., Billeter, R.C., Schmid, B. & Diemer, M. 2004. Genetic effects of habitat fragmentation on common species of Swiss fen meadows. *Conserv. Biol.* 18: 1043–1051.
- Ilves, A., Lanno, K., Sammul, M. & Tali, K. 2013. Genetic variability, population size and reproduction potential in *Ligularia sibirica* (L.) populations in Estonia. *Conserv. Genet.* 14: 661–669. Springer Netherlands.
- Ilves, A., Metsare, M., Tali, K. & Kull, T. 2015. The impact of recent colonization on the genetic diversity and fine-scale genetic structure in *Orchis militaris* (L.). *Plant Syst. Evol.* 301: 1875–1886.
- Jacquemyn, H., Roldán-Ruiz, I. & Honnay, O. 2010. Evidence for demographic bottlenecks and limited gene flow leading to low genetic diversity in a rare thistle. *Conserv. Genet.* 11: 1979–1987.
- Jordan, R., Hoffmann, A.A., Dillon, S.K. & Prober, S.M. 2017. Evidence of genomic adaptation to climate in *Eucalyptus microcarpa*: Implications for adaptive potential to projected climate change. *Mol. Ecol.* 26: 6002–6020. Wiley/Blackwell.
- Jump, A.S. & Peñuelas, J. 2005. Running to stand still: Adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecol. Lett.* 8: 1010–1020. Wiley/Blackwell.
- Kaljund, K. & Jaaska, V. 2010. No loss of genetic diversity in small and isolated populations of *Medicago sativa* subsp. *falcata*. *Biochem. Syst. Ecol.* 38: 510–520. Pergamon.
- Kaljund, K. & Leht, M. 2013. Extensive introgressive hybridization between cultivated lucerne and the native sickle medic (*Medicago sativa* ssp. *falcata*) in Estonia. *Ann. Bot. Fenn.* 50: 23–31. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- Keller, D., Holderegger, R., van Strien, M.J. & Bolliger, J. 2015. How to make landscape genetics beneficial for conservation management? *Conserv. Genet.* 16: 503–512. Springer Netherlands.
- Koelling, V.A., Hamrick, J.L. & Mauricio, R. 2011. Genetic diversity and structure in two species of *Leavenworthia* with self-incompatible and self-compatible populations. *Heredity* (Edinb). 106: 310–318.
- Kook, E., Vedler, E., Püssa, K., Kalamees, R., Reier, Ü. & Pihu, S. 2015. Intra-individual ITS polymorphism and hybridization in *Pulmonaria obscura* Dumort. and *Pulmonaria*

- angustifolia* L. (*Boraginaceae*). *Plant Syst. Evol.* 301: 893–910.
- Kramer, A.T. & Havens, K. 2009. Plant conservation genetics in a changing world. *Trends Plant Sci.* 14: 599–607. Elsevier Current Trends.
- Leimu, R., Mutikainen, P., Koricheva, J. & Fischer, M. 2006. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *J. Ecol.* 94: 942–952. Wiley/Blackwell.
- Leimu, R., Vergeer, P., Angeloni, F. & Ouborg, N.J. 2010. Habitat fragmentation, climate change, and inbreeding in plants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1195: 84–98. Wiley/Blackwell.
- Manel, S., Gaggiotti, O.E. & Waples, R.S. 2005. Assignment methods: Matching biological questions with appropriate techniques. *Trends Ecol. Evol.* 20: 136–142.
- Marczewski, T., Ma, Y.P., Zhang, X.M., Sun, W.B. & Marczewski, A.J. 2016. Why is population information crucial for taxonomy? A case study involving a hybrid swarm and related varieties. *AoB Plants* 8: plw070. Oxford University Press.
- McKay, J.K., Christian, C.E., Harrison, S. & Rice, K.J. 2005. “How local is local?” - A review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. *Restor. Ecol.* 13: 432–440. Wiley/Blackwell.
- Mijangos, J.L., Pacioni, C., Spencer, P.B.S. & Craig, M.D. 2015. Contribution of genetics to ecological restoration. *Mol. Ecol.* 24: 22–37.
- Mix, C., Xavier Picó, F., Van Groenendael, J.M. & Joop Ouborg, N. 2006. Inbreeding and soil conditions affect dispersal and components of performance of two plant species in fragmented landscapes. *Basic Appl. Ecol.* 7: 59–69.
- Oja, T., Reier, Ü., Pihu, S. & Kook, E. 2016. Geneetilised uuringud haruldaste taimeliikide kaitsel. *Eesti Loodus*. jaanuar.
- Pickup, M., Field, D.L., Rowell, D.M. & Young, A.G. 2012. Predicting local adaptation in fragmented plant populations: Implications for restoration genetics. *Evol. Appl.* 5: 913–924. Wiley/Blackwell.
- Pickup, M., Field, D.L., Rowell, D.M. & Young, A.G. 2013. Source population characteristics affect heterosis following genetic rescue of fragmented plant populations. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 280: 20122058. The Royal Society.
- Pihu, S. 2017. Eesti looduslike ohustatud taimeliikide geneetilise mitmekesisuse tagamiseks vajalike mehhanismide väljatöötamine. Tartu Ülikool.

- Plue, J., Vandepitte, K., Honnay, O. & Cousins, S.A.O. 2017. Does the seed bank contribute to the build-up of a genetic extinction debt in the grassland perennial *Campanula rotundifolia*? *Ann. Bot.* 120: 373–385. Oxford University Press.
- Primack, R.B., Kuresoo, R. & Sammul, M. 2008. *Sissejuhatus looduskaitsebioloogiasse*. Eesti Loodusfoto, Tartu.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. & Donnelly, P. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 159: 945–959.
- Puckett, E.E. 2017. Variability in total project and per sample genotyping costs under varying study designs including with microsatellites or SNPs to answer conservation genetic questions. *Conserv. Genet. Resour.* 9: 289–304. Springer Netherlands.
- Reed, D.H. & Frankham, R. 2003. Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conserv. Biol.* 17: 230–237. Wiley/Blackwell.
- Rellstab, C., Gugerli, F., Eckert, A.J., Hancock, A.M. & Holderegger, R. 2015. A practical guide to environmental association analysis in landscape genomics. *Mol. Ecol.* 24: 4348–4370. Wiley/Blackwell.
- Rellstab, C., Zoller, S., Walthert, L., Lesur, I., Pluess, A.R., Graf, R., *et al.* 2016. Signatures of local adaptation in candidate genes of oaks (*Quercus spp.*) with respect to present and future climatic conditions. *Mol. Ecol.* 25: 5907–5924. Wiley/Blackwell.
- Reynolds, L.K., McGlathery, K.J. & Waycott, M. 2012. Genetic diversity enhances restoration success by augmenting ecosystem services. *PLoS One* 7: e38397. Public Library of Science.
- 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. *Mol. Ecol.* 23: 832–842.
- Severns, P. 2003. Inbreeding and small population size reduce seed set in a threatened and fragmented plant species, *Lupinus sulphureus ssp. kincaidii* (*Fabaceae*). *Biol. Conserv.* 110: 221–229.
- Talve, T., McLaughlin, M.E., Helenurm, K., Wallace, L.E. & Oja, T. 2014a. Population genetic diversity and species relationships in the genus *Rhinanthus L.* based on microsatellite markers. *Plant Biol.* 16: 495–502.
- Talve, T., Mürk, M., Lindell, T. & Oja, T. 2014b. *Rhinanthus* plants found in calcareous fens on Gotland (Sweden): Are they related to *Rhinanthus osiliensis* from Saaremaa (Estonia)?

- Biochem. Syst. Ecol. 54: 113–122.
- Talve, T., Orav, K., Angelov, G., Pihu, S., Reier, Ü. & Oja, T. 2012. Comparative Study of Seed Germination and Genetic Variation of Rare Endemic *Rhinanthus osiliensis* and Related Widespread Congener *R. rumelicus* (*Orobanchaceae*). *Folia Geobot.* 47: 1–15. Springer Netherlands.
- Török, P. & Helm, A. 2017. Ecological theory provides strong support for habitat restoration. *Biol. Conserv.* 206: 85–91. Elsevier Ltd.
- Valiente-Banuet, A., Aizen, M.A., Alcántara, J.M., Arroyo, J., Cocucci, A., Galetti, M., *et al.* 2015. Beyond species loss: The extinction of ecological interactions in a changing world. *Funct. Ecol.* 29: 299–307. Wiley/Blackwell.
- Vranckx, G., Jacquemyn, H., Muys, B. & Honnay, O. 2012. Meta-Analysis of Susceptibility of Woody Plants to Loss of Genetic Diversity through Habitat Fragmentation. *Conserv. Biol.* 26: 228–237. Wiley/Blackwell.
- Whitney, K.D., Ahern, J.R., Campbell, L.G., Albert, L.P. & King, M.S. 2010. Patterns of hybridization in plants. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 12: 175–182. Urban & Fischer.
- Young, A., Boyle, T. & Brown, T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol. Evol.* 11: 413–418. Elsevier Current Trends.

Lisa 1. Ülevaattetabel taimede looduskaitsegeneetilistest uuringutest Eestis (ülevaade ei hõlma erinevaid looduskaitsegeneetika alaseid bakalaureuse-, magistri- ja doktoritöid).

Viide	Uuritud liik/liigid (ladina keeles)	Uurimusküsimus	Lühidalt põhileid
Aavik <i>et al.</i> 2017	<i>Rhinanthus osiliensis</i>	Maastikumuutuse mõju geneetilisele mitmekesisusele	Populatsiooni suuruse ja geneetilise mitmekesisuse vähenemine pudelikaelaefekti tagajärjel
Helm <i>et al.</i> 2009	<i>Briza media</i>	Fragmenteerumise mõju geneetilisele mitmekesisusele	Populatsioonide geneetiline mitmekesisus oli kasvukohtade pindalakaole juba reageerinud erinevalt samade loopealsete liigirikkusest
Ilves <i>et al.</i> 2013	<i>Ligularia sibirica</i>	Populatsiooni vähemise mõju geneetilisele variatsioonile ja paljunemisedukusele	Geneetiline mitmekesisus on seotud populatsiooni suurusega, kuid mitte geograafilise kaugusega
Ilves <i>et al.</i> 2015	<i>Orchis militaris</i>	Kolonisatsiooni mõju geneetilisele mitmekesisusele	Uued populatsioonid ei kannatanud asutajaefekti all ning olid geneetiliselt üpris mitmekesised
Kaljund & Jaaska 2010	<i>Medicago sativa subsp. falcata</i>	Fragmenteerumise mõju geneetiline mitmekesisusele ja populatsiooni suurusele	Kombinatsioon kindlatest bioloogilistest tunnustest (nt. pidevalt uuev seemnepank) on otsitava tähtsusega geneetilise mitmekesisuse säilitamiseks väikestes ja isoleeritud populatsioonides
Kaljund & Leht 2013	<i>Medicago sativa ssp. falcata</i>	Võimalik hübriidiseerumine	Introgressiooni tagajärjel on hübriidid muutunud morfoloogiliselt mitmekesisemaks ning <i>falcata</i> on tugevalt hübriidiseerunud
Kook <i>et al.</i> 2015	<i>Pulmonaria angustifolia</i> , <i>P. obscura</i>	Võimalik hübriidiseerumine	<i>Pulmonaria angustifolia</i> on oletavasti hübriidiseerunud <i>P. obscura</i> -ga
Pihu <i>et al.</i> 2017	<i>Dianthus arenarius</i>	Nõmmnelgi alamliikide tuvastamine, geneetilise mitmekesisuse tagamiseks vajalike soovituste väljatöötamine	Alamliigid ei eristu mikrosatelliitide alusel
Talve <i>et al.</i> 2012	<i>Rhinanthus osiliensis</i> , <i>R. rumelicus</i>	Seemnete idanemisvõime ja geneetilise mitmekesisuse vahelise seose tuvastamine	Kehv idanemisvõime oli seotud lähiristumisega
Talve <i>et al.</i> 2014a	genus <i>Rhinanthus</i>	Taksonoomiline kuuluvus	Saaremaa robirohu (<i>R. osiliensis</i>) populatsioonides tuvastati isendeid, kes oli geneetiliselt sarnased nende sõsarliigiga suure robirohuga (<i>R. angustifolius</i>).
Talve <i>et al.</i> 2014b	<i>Rhinanthus osiliensis</i>	Taksonoomiline kuuluvus	Saaremaa robirohtu võib pidada Eesti endemiks

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kristin Pille,

(sünnikuupäev 15.07.1996)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose "Geneetiliste uuringute tähtsus taimepopulatsioonide kaitsel ja taastamisel",

mille juhendaja on Tsipe Aavik,

- 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
 3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **23.05.2018**