

Tartu Ülikool
Loodus- ja Tehnoloogiaosakond
Ökoloogia ja Maateaduste Instituut
Botaanika õppetool

Tänapäevane hübriidliigiteke perekonnas *Dactylorhiza* (*D. baltica* ja *D. osiliensis* näitel.)

Bakalaureusetöö botaanikas

Margarita Mürk

Juhendaja: Ph.D. Tatjana Oja

Tartu 2008

Sisukord

Sisukord.....	2
Sissejuhatus	3
1. Evolutsioon ja liigiteke taimedel	4
1.1 Liigikontseptsioonid ja liigi definitsioonid taimedel.....	4
1.2 Varieeruvuse lätted	5
1.3 Liigitekke ja liikide säilitamise mehhanismid.....	5
1.4 Hübridisatsioon ja tagasiristumine	7
1.5 Hübriidne liigiteke.....	8
1.6 Hübriidliigiteke käpaliste (<i>Orchidaceae</i>) sugukonnas	10
2. Sugukond käpalised (<i>Orchidaceae</i>)	11
2.1 Taksonoomiline kuuluvus ja päritolu.....	11
2.2 Käpaliste sugukonna üldine kirjeldus.....	11
3. Perekond sõrmkäpp - <i>Dactylorhiza</i> Neck. ex Nevski.....	13
4. Balti sõrmkäpp – <i>Dactylorhiza baltica</i> (Klinge) Orlova.....	16
4.1. Liigi taksonoomia ja levik.....	16
4.2 <i>Dactylorhiza baltica</i> morfoloogia, bioloogia, ökoloogia	17
4.3 <i>Dactylorhiza baltica</i> evolutsioon erinevate molekulaarsete andmete alusel Venemaa populatsioonides.....	20
5. Saaremaa sõrmkäpp - <i>Dactylorhiza osiliensis</i> T. Pikner sp. nova.....	21
5.1 <i>Dactylorhiza osiliensis</i> 'e avastamise lugu.....	21
5.2 <i>Dactylorhiza osiliensis</i> 'e kirjeldus, bioloogia ja ökoloogia.....	22
Kokkuvõte	25
Summary.....	26
Lisad	27
Kirjanduse loetelu.....	29
Kasutatud veebiaadressid:	37

Sissejuhatus

Liigiteke on taimeriigis väga oluline, keeruline ja huvitav protsess. Uuritud on liigiteket taimedel suhteliselt palju ning on välja pakutud mitmeid erinevaid mudeleid selle käigu kohta. Veel hiljaaegu arvati, et uusi liike enam ei teki, mis aga ei ole õige. Tegelikult võtab klassikaline järk-järguline liigiteke väga kaua aega, sellepärast raske on mõista, kuidas liigiteke töötab, kuna inimese elu on võrreldes liigitekkega ajaga üürrike. Siiski on olemas juhtumid, kus saab kindlalt väita, et liik on tekkinud just praegusel ajal. Inimene võib olla uue liigi sünni või tekke tunnistaja, kui see liik on hübriidse päritoluga.

On teada, et hübriidliikide tekkeprotsess on äärmiselt keeruline. Selleks on vaja mitmete sobivate tingimuste kokkulangemist, näiteks nagu ristumisbarjäärade puudumine või nende ületamine, hübriididele sobiv vaba niši olemasolu ja soodsad tingimused paljunemiseks.

Kuidas siis hübriidliigid täpsemalt tekivad? Mis on need tingimused, mis peavad olema täidetud, et uus liik tekiks?

Eriti sagedane on hübriidliigiteke sugukonnas *Orhidaceae*, Eestis levinud liikidest on ilmselt nende sündmuste heaks näiteks kaks *Dactylorhiza* perekonna liiki: *Dactylorhiza baltica* ja alles hiljuti avastatud *Dactylorhiza osiliensis*. Mõlemad liigid arvatakse olevat tekkinud hiljuti, *D. baltica* umbes 100 ja *D. osiliensis* umbes 50 aasta jooksul. Mõlemat taime on Eestis väga vähe uuritud. Venemaal on *D. baltica* populatsioonide kohta tehtud üpris ulatuslikud uuringud.

Käesoleva kirjanduse ülevaatel põhineva töö eesmärgiks on:

1. Iseloomustada hübriidliikide teket.
2. Luua üldine ülevaade taksonoomiliselt keerulise *Dactylorhiza* perekonna kohta tehtud uurimuste kohta.
3. Kirjeldada kahte *Dactylorhiza* hübriidpäritoluga liiki, *D. baltica* ja *D. osiliensis*
4. Koguda kokku *D. baltica* ja *D. osiliensise* kohta käiv informatsioon edasiste Eesti populatsioonide uuringute planeerimiseks.

1. Evolutsioon ja liigiteke taimedel

1.1 Liigikontseptsioonid ja liigi definitsioonid taimedel

Evolutsioon on muutused populatsiooni geneetilises struktuuris, mis kujunevad järgnevate põlvkondade jooksul loodusliku valiku mõjul indiviidide geneetilises varieeruvuses ning mille tulemuseks on uute liikide teke.

Seetõttu on tähtis mõista, geneetilise varieerumise päritolu ja geograafilist jaotumist. Liigiteke on süstemaatikutele väga tähtis uurimisvaldkond. Eraldiseisvaid varieeruvuse üksusi- taksoneid-, ning uusi liike tekitavad protsessid on alati olnud süstemaatikute suur huvi.

Taimed pakuvad väga erilisi võimalusi liigitekke uurimiseks. Õistaimed on väga liigirikkad, kusjuures paljud liigid on alles hiljuti tekkinud, olles suurepäraseks näideteks aktiivsest liigitekkest. Taimedel on äärmiselt varieeruv paljunemissüsteem, ploidsus, levikuviis ja elustrateegiad, aidates mõista erinevate ökoloogiliste ja evolutsiooniliste faktorite osa liigitekkes (Rieseberg ja Willis, 2007).

Liikide vahele piiri tõmmata on äärmiselt keeruline, mistõttu proovitakse seda teha erinevate liigikontseptsioonide kaudu, igal ühel neist omad näitajad, millele uurijad toetuvad. **Nominalistliku** liigikontseptsiooni puhul lähtutakse seisukohast, et liigid eksisteerivad ainult inimese jaoks ja olemas on vaid isendid või nende rühmad, mille vahel ei ole selgeid piire. Essentsialistliku ehk **morfoloogilise** kontseptsiooni kohaselt erinevad liigid üksteisest morfoloogiliste (siia loetakse ka biokeemilised ja füsioloogilised tunnused) tunnuste poolest ja et liikide vahel esineb **hiaatus** ehk tunnuste üleminekuvormideta erinevus. **Isolatsioonilise** ehk **bioloogilise** liigikontseptsiooni järgi koosneb liik omavahel ristuvate isendite populatsioonidest. **Fülogeneetiline** kontseptsioon peab liigiks ühe esivanemate paari/esivanema järglasi. Samuti on olemas ka **kohesioonikontseptsioon** (cohesion concept), mille järgi hoiab liiki koos mingi ühine piirav tegur nt. takistatud geenisiire, ökoloogilised, ajaloolised või arenguga seotud barjäärid (Parmasto, 1996). Iga kontseptsioon pakub oma liigi definitsiooni, kuid üldiselt tunnustatud mõistet ei ole olemas.

Kuigi paljud bioloogid peavad liigiks populatsioonide gruppi, mis ei vaheta geneeste populatsioonidega, ei sobi ristumisbarjäär taimeliikide määravaks tunnuseks, kuna neil esineb liikidevaheline hübriidisatsioon ja iseviljastumine. Seetõttu ei ole taimesüstemaatikutele oluline, et liigi mõiste eeldaks üksteisega ristuvate isendite rühma. Selle asemel defineerivad nad liiki kui eraldiseisva evolutsioonilise sugupuuga populatsioonide gruppi (fülogeneetiline lähenemine). Põhilised andmed, mida kasutatakse

liikide eristamiseks on morfoloogilised, kuigi hiljuti on aina rohkem hakatud kasutama molekulaarseid andmeid (Judd et al., 2002).

1.2 Varieeruvuse lätted

Mutatsioonid ja geneetiline rekombinatsioon on põhilised varieeruvuse allikad taimepopulatsioonide ja liikide vahel ja nad moodustavad toormaterjali looduslikule valikule ja juhuslikule geenitriivile, kahele evolutsiooni põhijõule (Kallak, 1986).

Mutatsioonide alla käivad DNAs toimunud muutused, alates nn. punktmutatsioonidest ehk üksikute aluspaaride vahetusest lõpetades insertioonide, duplikatsioonide, deletsioonide ja inversioonidega, samuti ka kromosoomide hulga muutumine ja ka terve genoomi põhised muutused. Üks tähtsamad mutatsioone on geenide kordistamine ehk duplikatsioon, mis tekitab geenide lisakopiaid, mis omakorda saavad muteeruda uuteks geenideks. Polüploidisuse tulemus on suurem geneetiline mitmekesisus, mis on aluspõhjaks looduslikule valikule, mistõttu on polüploidisus taimedes sage ja evolutsiooniliselt oluline protsess.

Geneetiline rekombinatsioon on meioosi ajal geenide segunemine. Selle asemel, et homoloogidel oleks kas ainult isas- või emasliini geenid, saab neile tänu ristisirdede (crossing over) nende kahe komplekti segu. Rekombinatsioonid on hea varieeruvuse allikas. Mida tihedamini toimub ristisire ja mida rohkem on kromosoomide, seda suurem on rekombinatsioon. Populatsiooni suurus, seemnete ja tolmu laialikandumise viis ja paljud teised faktorid samuti mõjutavad geneetilist rekombinatsiooni (Judd et al., 2002).

Juhuslik geneetiline triiv (genetic drift) mis mõjutab geenide kinnitumist väikestes populatsioonides ning **geeniire (gene flow)**, mis võib populatsiooni lisada uut geneetilist materjali samuti mõjutavad taimepopulatsioonide varieerumist (Briggs ja Walters, 1997).

1.3 Liigitekke ja liikide säilitamise mehhanismid

Liigitekke on evolutsiooni üks etappe ning on evolutsioonilises divergeerumises põhiline protsess. Liigitekke toimumiseks on mitu erinevat viisi. Liikide tekkeks on vajalik isoleeriv faktor, mis laseb tekkinud muutustel kinnituda (Kallak, 1986).

Järk-järgulise divergentsiga vahepealsete geograafiliste rasside, alamliikide ja lõpuks eraldi liikide teket nimetatakse **allopaatriliseks ehk geograafiliseks liigitekkeks**. Selle vaate

kohaselt on vajalik geograafiline isolatsioon geenisiirde takistamiseks ja divergentsi lubamiseks isoleeritud populatsioonide jaoks. Sellele alternatiivne vaade väidab, et liigiteke leiab aset kohalikes populatsioonides või metapopulatsioonides (juhusliku geenisiirdega ühendatud populatsioonid). See on perifeerse isolatsiooni liigitekke mudel. Väikesed populatsioonid liigi levila servades saavad mõjutatud juhusliku geenitriiviga, samuti võivad neid mõjutada teistsugused keskkonnatingimused. Need esialgsed muudatused võivad osutada piisavalt tähtsaks, et tekiks uus liin. Kui see uus liin geograafiliselt ei levi, võib ta kergesti välja surra. Kui see aga levib, on tema edukus määratud tema unikaalse ökoloogiliste adaptatsioonidega mis laseb tal vältida konkureerimist eellasega (Parmasto, 1996).

Erijuhtudel võib toimuda liigiteke ka ilma geograafilise eralduseta, kuid mingi muu barjäär geenisiirde takistamiseks on vajalik, näiteks õite morfoloogia erinevus või paljunemisviisi järsk muutumine. Seda nimetatakse **sümpatriliseks ehk ökoloogiliseks liigitekkeks**.

Geenisiirde vältimiseks on liikidel palju erinevaid mehhanisme, millest enamus on seotud eduka paljunemise takistamisega (Judd et al., 2002).

- 1) Ajaline isolatsioon, kus kokku ei lange taimede õitsemisperiood või päevatsükkel
- 2) Õite isolatsioon, mis on seotud õite kohastumusega erinevate tolmendajate jaoks
- 3) Iseviljastumine – tavaliselt muutus õie ehituses, kus taim ei ristu enam ümberkaudsete isenditega vaid tolmendab end ise.
- 4) Sobimatus (incompatibility) – ühe taime tolmuterad ei ole võimelised kinnituma teise taime emakale või ei suuda moodustunud embrüo liituda endospermiga
- 5) Hübriidide elujõu langus (hybrid inviability), kus hübriidid ei jõua paljunemisikka
- 6) Hübriidide õite isolatsioon (hybrid floral isolation), mille puhul puudub hübriidile sobiv tolmendaja
- 7) Hübriidide steriilsuse (hybrid sterility) puhul võib taim olla täiesti elujõuline kuid ei suuda anda järglasi kromosoomide arvu või suuruse sobimatuse tõttu.
- 8) Hübriidide lagunemine (hybrid breakdown), kus teise põlvkonna hübriidid on nõrgad või steriilsed

Nende faktorite koostoimel tekib peaagu täielik isolatsioon. Presügootsed barjäärid (1-4) on kõige olulisemad. Postsügootsetel faktoritel (5-8) on suhteliselt väike mõju isolatsioonile (Sargent ja Otto, 2006) .

Kahjuks on väga vähe teada taimede liigitekke kiirusest, kuigi kaasaegse evolutsiooni uuringud näitavad, et liikidevahelised barjäärid tekivad kiiresti. Kiirest individuaalsete reproduktiivsete takistuste tekkest hoolimata on enamus taimi üksteisest eraldatud mitme barjääriga, mis annab mõista, et lõpliku liigitekke jaoks on vaja tuhandeid põlvkondi. Suureks

erandiks on hübriidsete ja polüploidsete liikide teke. Täielikult eraldatud polüploidised liigid võivad tekkida ühe-kahe põlvkonna jooksul ning homoploidised (diploidised) hübriidliigid võivad saavutada isolatsiooni juba 60 põlvkonna jooksul (Ungerer, 1998)

1.4 Hübridisatsioon ja tagasiristumine

Hübridisatsiooni peetakse tähtsaks nähtuseks õistaimede evolutsioonis. Pakutakse välja, et enamus taimeliikidest on tekkinud kunagise hübriidisatsiooni teel (nt. Stebbins, 1959; Raven, 1976; Grant, 1981; Arnold, 1997). Kogu maailmas looduslikult tekkivate taimeliikide vaheliste hübriidide arvuks pakutakse 70 000 (Stace, 1984), kuid kõik taimegrupid ei hübriidiseeru. Sugukonnad, milles hübriidisatsioon on tavaline nähtus koosnevad tavaliselt mitmeaastastest taimedest, kes on võõrtolmlejad ning putuktolmlejad ja omavad vähemalt ühte vegetatiivse paljunemise viisi. Hübridisatsioon on piisavalt tavaline, et olla oluline taimede mitmekesisuses, tekitada keerulisi varieeruvusmustreid ja mõnel juhul ka vähendada mõndade liikide morfoloogiliste tunnuste eripära (McKinnon, 2005).

Reproduktiivsed isolatsioonimehhanismid, mida ülalpool kirjeldatud sai, ei ole alati efektiivsed ning geenisiire eri taimeliikide vahel on suhteliselt tavaline (Rieseberg ja Morefield, 1995; Ellstrand et al., 1996; Arnold, 1997). Hübridisatsiooni mõistet kasutatakse kõige sagedamini liikidevahelise ristumise kohta. Selline liikidevaheline hübriidisatsioon on kriitiliselt oluline taimede evolutsioonis uute geenikombinatsioonide allikana ja liigitekke mehhanismina. Sageli seostatakse hübriidisatsiooni koosluste häirimisega. Loodusnähtused nagu metsapõlengud, üleujutused, kahjurid jm. võivad kaotada kahte liiki isoleerivad ökoloogilised adaptatsioonid, ning tektada hübriididele sobivad kasvukohad. Häiritusele järgnev vähenenud konkurents samuti soosib hübriidide levimist.

Hübridisatsioonil on viis potentsiaalset tagajärge (Rieseberg ja Ellstrand, 1993; Riesenberg ja Wendel, 1993; Arnold, 1994, 1997):

- 1) Reproduktiivse isolatsiooni mehhanismide tugevdamine (hübriidide vastu toimiv looduslik valik)
- 2) Hübriidide parve kujunemine teatud alal hübriidide paljunemise tõttu
- 3) Kahe liigi liitumine liikidevahelise geenisiirde tõttu (introgressioon)
- 4) Geneetilise mitmekesisuse ja adaptatsiooni suurenemine olemasolevatel liikidel
- 5) Uute liikide teke

Seega saab hübriidisatsioon säilitada bioloogilist mitmekesisust, seda hävitada või

luua. Hübriididel võib olla kõrgem fitness kui vanemliikidel, mida tuntakse hübriidjõu (hybrid vigor) või heteroosi nime all, ning nad võivad kohaneda uute elukeskkondadega.

Introgressioon ehk tagasiristumine võib omada kolme võimalikku tagajärge:

- 1) Kahe liigi liitumine vaba geenisiirde tekkimise tõttu
- 2) Geneetilise materjali ülekande ühelt liigilt teisele ilma liike liitmata ja selle kaudu tagasiristunud liigis geneetilise mitmekesisuse suurendamine.
- 3) Stabiliseerunud tagasiristujad võivad moodustada uusi liike. Hübriidliigiteke võib toimuda diploidide tasemel, kuid üldiselt seostatakse seda ploidsuse suurenemisega.

Üldiselt kipuvad kahe erineva liigi F1 hübriididel olema vanemate vahepealsed tunnused (Hardig et al., 2000; Schwarzbach et al., 2001), kuigi on ka erandeid. Paljude taimeosade mõõdud, nagu varre kõrgus, lehtede ja kroonlehtede pikkus ja vilja läbimõõt, on polügeense päritoluga, ehk siis kontrollitud mitme geeni poolt, millest kõik mängivad rolli fenotüübi kujunemisel. Seega võivad hübriididel esineda nii täiesti uued, kui juba vanemate liikides esinenud tunnused (McKinnon, 2005).

Biokeemilised ja molekulaarsed tunnused annavad palju suurema tõenäosusega hübriidides eeldatud avaldumist, kui morfoogilised. Näiteks isoensüümide või tuuma DNA järjestuste puhul on F1 põlvkonna isenditel mõlemalt vanemalt saadud tunnused, samas kui ainult ühelt vanemalt saadud molekulaarsetes markerites, näiteks kloroplastide DNAs, ei ole lisandumisi toimunud. Morfoloogilised andmed annavad esimesi tõendeid võimalike hübriidisatsiooni kohta, kuid on palju muid võimalusi, näiteks mutatsioonid, fenotüübiline plastilisus või looduslik valik, mille tulemusena üksikud tunnused võivad näidata F1 hübriididele omaseid vahepealseid omadusi. Samuti võivad liigid paista enam-vähem vahepealsed läbi evolutsioonilise konvergenti. Ühe liigi jaotumine kaheks derivaadiks samuti simuleerib hübriidisatsiooni. Seda probleemi saab lahendada kasutades mitmete tunnuste komplekte, samuti saab olla kindel, et tegu on hübriidiga, kui seda saab eksperimentaalselt korrata (Judd et al., 2002).

1.5 Hübriidne liigiteke

Kahtlemata on hübriidliigitekkel taimeriigis väga suur evolutsiooniline tähtsus. Arvatakse, et osa liike on tekkinud mitu korda erinevate hübriidisatsioonijuhtumite käigus (McKinnon, 2005). Nagu ülal mainitud, võib hübriidisatsioon koos polüploidsusega viia

sümpatrilise liigitekkeni taimede populatsioonides (Hedren, 1996). Tavaliselt hübriidiseerumisele järgneb polüploidus, kuid on olemas ka paar hästi dokumenteeritud diploidse hübriidisatsiooni juhtumit, kus kahe diploidi vahelisest ristandist arenes diploidne hübriidliik. Näiteks, molekulaarsete andmete põhjal tehti kindlaks, et kahe diploidse päevalille liigi, *Helianthus annuus*'i ja *H. petiolaris*'e, hübriidiseerumise teel tekkisid kolm uut diploidset päevalille liiki: *H. anomalus*, *H. deserticola* ja *H. paradoxus*. (*Asteraceae*) (Reisenberg ja Wendel, 1993). Vanemliikide kromosoomide erinevused põhjustasid hübriidide osalist steriilsust. Rekombinatsioon hübriidides taastab osa viljakusest, kuid nad jäävad alatiseks vanemliikide suhtes osaliselt steriilseks (Arnold, 1994).

Diploidne liigiteke on haruldasem, kui polüploidne kahel põhjusel. Esiteks, diploidsetel hübriididel on esimeste põlvkondade jooksul märgatavalt alanenud elujõulisus, samas kui polüploidide viljakus üleminekufaasis ei muutu. Teiseks, genoomi duplikatsioon kaitseb uute polüploidide geneetilist tervikkust, sellist piirangut aga diploidsetel hübriididel vanemliikidega tagasiristumise ees ei ole (Gross ja Rieseberg, 2005). Lisaks sellele on diploidseid hübriide raskem avastada kuna neil tihti puuduvad kindlalt eristuvad tunnused, nagu näiteks muutunud kromosoomide arv. Diploidsed hübriidliigid võivad saavutada reproduktiivse isolatsiooni kiire uue hübriidiliini karüotüüpse evolutsiooni, ökoloogilise divergentsi või ruumilise eraldamise teel (Buerkle et al., 2000).

Polüploide on lihtsam avastada, kuna nende kromosoomide arv muutub seoses genoomi mitmekordistumisega. Sellegipoolest, polüploidse liigitekke sagedus jääb küsitavaks, kui ühes perekonnas on mitu polüploidset liiki, on raske kindlaks teha kas selle puhul oli tegu ühe üleminekuga, millele järgnes eristumine, või mitme üleminekuga iga liigi jaoks eraldi (Otto ja Whitton, 2000).

Polüploiduse suurest esinemissagedusest eri taimerühmades järeldades on sellel olnud suur roll taimede evolutsioonis. Polüploidid tekivad kas läbi somaatilise genoomi kahekordistumise, redutseerumata gameetide liitumise või üle triploidse silla. Taimedel esineb põhiliselt redutseerumata gameetide rada (Ramsey ja Schemske, 1998). Lisandunud kromosoomi-komplektid annavad liigset geneetilist materjali, mida saab probleemideta muteerida uuteks, kohastunud geenideks. Seetõttu näitavad polüploidid välja suurt biokeemilist mitmekesisust, tootes palju uusi geeniprodukte mille kallal saab hiljem rakendada looduslikku valikut. Selle tulemusena on polüploidid üldiselt rohkem levinud ja leiduvad ekstreemsemates elukohtades kui nende diploidsed sugulased. Üleminek diploidsest polüploidseks toob tihti kaasa isesobimatuse (self-incompatibility) kaotust ja isefertiilsust (Judd et al., 2002).

Polüploide saab klassifitseerida kahte kategooriasse (Grant, 1981). **Autopolüploididel**

on mitu üksteisega struktuurilt sarnast vanemgenoomi (samalt liigilt), mille vahel toimub meioosi ajal vaba rekombinatsioon eri päritoluga kromosoomide vahel. **Allopolüplodidel** on vastupidiselt mitu erinevat vanemgenoomi (erinevatelt liikidelt ja rekombinatsioon toimub vaid sama päritoluga kromosoomide vahel). Kuigi autopolüploide tekib tõenäoliselt tihedamini, kui allopolüploide (Ramsey ja Schemske, 1998), on enamuse kirjeldatud hübriidliike allopolüplodid, kuna neid on lihtsam leida ja ära tunda (Levin, 1983).

Kunstlike polüploidide uurimisel on saadud teada, et liikidevaheline hübriidatsioon on esmajärjekorras adaptatsiooni ja liigiteket mõjutavate kiirete muutuste ja geneetilise varieeruvuse põhjustaja (Leitch ja Leitch, 2008). Lühikese aja jooksul pärast polüploidide teket võivad nende genoomides toimuda ulatuslikud struktuurimuutused. Mida varieeruvamad olid vanemliigid ja on polüploid, seda drastilisemad on struktuurimuutused. Paljud uuringud näitavad, et polüploidsus on kujunenud mitmel korral. Kui vanemliigid on geneetiliselt erinevad saab nende korduval omavahelisel ristamisel toota erinevaid allopolüploide. Nende allopolüploidide omavahelisel ristamisel saab omakorda suurendada geneetilist mitmekesisust (McKinnon, 2002).

Liikidevaheline hübriidatsioon tavaliselt põhjustab geenitriivi populatsioonide vahel, lõhkudes isolatsioonibarjääre ja ei vii tavaliselt liigitekkeni. Kuid, kromosoomide arvu kordistumine loob kohesed barjäärid polüploidi ja tema diploidsete vanemate vahele. Seega on mõlemal allopolüploidsuse aspektil tähtis osa nende suures esinemissageduses: a) liikidevaheline hübriidatsioon võib algatada muutusi geenidest ökoloogiani ning b) kromosoomide arvu kordistumine aitab neid muutusi kinnitada (Leitch ja Leitch, 2008).

1.6 Hübriidliigiteke käpaliste (Orchidaceae) sugukonnas

Hübriidatsioon on käpalistel laialt levinud, mille põhjuseks peetakse allogaamset paljunemisviisi ja putuktolmlemist (Dressler, 1983). Sagedamini hübriidiseeruvad omavahel sarnase õieehitusega liigid, kuigi on võimalikud ka erineva morfoloogiaga liikide hübriidid (Summerhayes, 1985). Looduslikud hübriidid esinevad orhideedel väga sageli ja uusi näiteid sellest leitakse igal aastal, kuid kahjuks puudub tihti hübriidide olemasolu kinnitamiseks piisav geneetiline tõendusmaterjal. Hübriidide parved ja hübriidse päritoluga liigid paistavad olevat tavalised Euroopas (Scacchi et al., 1990), aga mitte mujal, kuigi arvatakse, et need numbrid võivad olla üle pakutud (Hedren, 1996). Samuti toimub hübriidiseerumine väga kergesti *Dactylorhiza* perekonnas, millest tuleb juttu järgmises peatükis.

2. Sugukond käpalised (*Orhidaceae*)

2.1 Taksonoomiline kuuluvus ja päritolu

Käpalised on üks suuremaid sugukondi, mis kuulub seltsi Asparilaadsed (*Asparagales*), mis omakorda kuulub klassi üheidulehelised (*Monocotyledoneae*) katteseemnetaimede või teise nimega õistaimede (vastavalt *Angiospermae* või *Anthophyta*) hõimkonnast. Käpaliste otsene päritolu on siiaamaani täpselt teadmata ning seda uuritakse aktiivselt (Dressler, 1983, 1993; Chase, 1986, 1988; Chase ja Hills 1992; Chase ja Palmer 1992; Cameron et al., 1999; Kores et al., 2000; Whitten et al., 2000; Salazar et al., 2003)

Kõik siiaamaani saadud molekulaarne tõendusmaterjal näitab, et käpaliste sugukond on polüfüleetiline (Chase et al., 2003). Uurimised näitavad, et käpalised jaotuvad viide alamsugukonda, kusjuures reduktsioon kolmelt tolmukalt ühele on toimunud käpaliste evolutsioonis vähemalt kaks korda.

Orhideelised paistavad olevat teiste asparilaadsete kõrvalliin ja on vägagi selge, et ükski teine asparilaadsete perekond ei ole orhideelistega lähedases suguluses. (Soltis et al., 2005a)

2.2 Käpaliste sugukonna üldine kirjeldus.

Sugukonda kuulub kuni 800 perekonda, milles on umbes 35 000 liiki, mis on levinud põhiliselt troopilistel ja subtroopilistel aladel kogu Maal. Jahedas ja mõõdukas kliimas kasvab ainult kümnendik liikidest (Kukk, 1970) . Eestis esineb 18 perekonda 37 liigiga, eriti palju erinevaid liike on Lääne-Eestis. Enamik meie käpalisi eelistab lubjarikast pinnast (Kull ja Tuulik, 2002).

Käpalised on mitmeaastased auto- või mükotroofsed mitmesuguse suurusega rohttaimed, mis kasvavad kas maapinnal või troopikas epifüütidena; mõned on liaanid, kuid peaaegu kõik on seoses mükoriisiga. Enamus käpalisi on juurekarvadeta.

Maapinnal kasvavatel liikidel on risoomid, mugulsibulad või juuremugulad, epifüütsetel liikidel arvukad õhujuured. Juuremugulatesse kogunevad toitained. Vars on lihtne, epifüütsetel käpalistel puhetuvad üks kuni mitu varre sõlmevahet mugulakujulisteks, moodustades tuberiidid ehk bulbid, millesse kogunevad tagavaraks vesi ja toitained. Juuremugulaid on enamikul liikidel kaks, noor taim kasvab möödunud aasta mugulate arvel, noorde mugulasse kogunevad järmise aasta varuained (Kuusk, 1984).

Lehed paiknevad vahelduvalt, vahel harva vastakult või männaseliselt; terved ja terveservalised, kujult munajad, süstjad või elliptilised, soonestuselt rööp- või kaarroodsed. Aluselt on lehed sageli tupekujulised; saprofüütide lehed on taandarenenud soomusjateks

moodustisteks. Suurel hulgal epifüütsetel käpalistel on assimilatsiooniorganiks lehtede asemel õhujuured.

Õied paiknevad põhiliselt tipmises kobar-, tähk- või pöörisõisikus, harvemini üksikult, tavaliselt mõlemasugulised. Õied on sügomorfsed, mõnikord lehtaolise või soomusja kandlehe kaenlas. Õiekate on lihtne ehk perigoon, koosneb eristumata õiekattelehtedest, mis on iseloomulik üheidulehelistele. Kolm välimise ringi õiekattelehte on enamasti vabad, mõnikord kokku kasvanud, sarnase kuju ja suurusega, vahel keskmine veidi suurem ja eredamalt värvunud. Kolmest sisemise ringi õiekattelehest keskmine on suurem, sageli morfoloogiliselt tugevasti muundunud ja teisiti värvunud, tihti hõlmne ning alusel kannusega. Sageli on moodustunud huul varustatud nektaariumiga. Kaks külgmist sisemise ringi õiekattelehte on sarnased välimise ringi omadega. Paljudel käpaliste liikidel on õieraagu asendav sigimik 180° võrra keerdunud nii, et huul asetseb allpool, võimaldades putukatele parema ligipääsu (Kuusk, 1984; Schmeidt, 1996).

Tolmukaid on käpalistel tavaliselt säilinud vaid üks välimise ringi tolmuks (alamsugukond *Monandrae*), sisemisel ringil on alles vaid kaks kõlutolmuks (staminoodi). Harvem on tolmuks kaks (alamsugukond *Diandrae*), kus on välimise ringi tolmuks muundunud staminoodiks ning sisemisel ringil on kaks tolmuks. Väga vähestel juhtudel areneb kuni viis tolmuks (Kukk, 1970).

Kolme- ja kahe tolmuksaga liikidel on õietolm üksikute teradena, mõndadel ühetolmuksalistel kleepub see tetraadideks, mis omakorda moodustavad kurikakujulised tombud – polliiniumid. Tavaliselt on polliiniumid varustatud kleepuva kettga, millega nad kinnituvad emakasuudme hõlmale – rostellumile (Kuusk, 1984).

Tolmlemiseks on orhideelistel mitmeid viise. Enamusel liikidel esineb putuktolmlemine, vähestel aga ise- või lindtolmlemine. Tolmendajatele meelitamiseks on õietolm, nektar või magus lõhn. On perekondi, näiteks sõrmkäpp (*Dactylorhiza*), mis ei paku tolmendamise eest tasu ja “petavad” putukaid. Osadel liikidel on õied võtnud emasmesilaste, kärbeste või herilaste kuju ja lõhna ning saavad tolmendatud kui isased putukad üritavad nendega paarituda (Judd et al., 2002)

Sigimik on alumine, kolmest viljalehest moodustunud ja meenutab viljaraagu. Seemnealgmeid on arvukalt, emakasuue on kahe- või kolmehõlmne, kusjuures kahehõlmastel on kolmas hõlm muundunud rostellumiks (Kuusk, 1984).

Vili on kupar, kolme- või kuue pikilõhega. Seemneid viljas palju, mõnedel liikidel kuni 4 miljonit. Seemned on väikesed, kerged (umbes 0,005mg), samuti puudub neil endosperm ja fütomelaan. Seemnekest võrkjas ja õhuga täidetud (Soltis et al., 2005b).

Seemned püsivad idanemisvõimelistena üpris pikka aega, idanemiseks on vajalik

sümbioos seentega, kusjuures seeneniidid peavad tungima idusse. Uute taimede areng on väga aeglane, õitsemissikka jõudmiseks võib kuluda kuni kümnekond aastat. Klonaaltaimedena paljunevad orhideelised tihti vegetatiivselt risoomi, juuremugulate või tuberiidide abil moodustades kloone (Schmeidt, 1996).

Uues kasvukohas peavad orhidee arenguks olema täidetud väga paljud tingimused. Esiteks peab kasvukoht olema sobilik nii taimele kui ka tema seensümbiondile ja seda kogu arengu jooksul. Teiseks on edasiseks seemnetega paljunemiseks vajalik putukaliik, kes on võimeline seda taime tolmendama, kellele on omakorda vaja sobivaid toitumistingimusi. Kõigi faktorite seas mängivad osa ka neid ohustavad haigused, parasiidid ja looduslikud vaenlased. Kõigest sellest lähtudes saab öelda, et paljuneva ja kasvava käpaliste populatsiooni puhul ei ole tegemist ainult ühe taimeliigiga, vaid suure hulga erinevate taimede, loomade ja seente kooseluga. See on põhjuseks, miks käpalistele on antud suur bioindikatsiooniline tähtsus, mistõttu on nad huvitavaks uurimisobjektiks paljudele teadlastele ja looduskaitsetajatele. (Kull ja Tuulik, 2002)

3. Perekond sõrmkäpp - *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski

Dactylorhiza Necker ex Nevski on suhteliselt liigirikas orhideeliste perekond, mis levib subtroopiliselt arktilise Euraasiani ja Põhja-Aafrikas; üks liik (*D. aristata*) on leitud Alaskalt ning üks (*D. praetermissa* (Druce) Soo) Newfoundlandilt (Shipunov et al., 2004). Averyanov (1990a) kirjeldab kolme mitmekesisuse tsentrit: Lääne-Euroopa (s.h. Briti saarestik, Saksamaa ja Skandinaavia lõunaosa), Karpaatia ja Balkani piirkond ning Väike-Aasia, mis sobib laiemalt võttes Delforge 2001 aastal antud andmetega, mille kohaselt on kõige rohkem *Dactylorhiza* liike loode-Euroopas.

Dactylorhiza perekonnal on väga keeruline taksonoomia (Hedren, 2001a), kusjuures on liikide arv varieerub erinevates allikates alates 12st (Klinge, 1899) kuni 75 (Averyanov, 1990b), millest Euroopas leiduvaid liike on 6 (Sundermann, 1980) kuni 58 (Delforge, 2001). Olulisi erinevusi võib esineda ka samade autorite erinevates väljaannetes, näiteks Delforge loetles 1995 aastal Euroopas 49 liiki kuid 2001 aastaks oli sellele lisandunud veel 9.

Sellele lisaks on viimasel ajal hakatud erinevateks liikideks pidama morfoloogia ja geograafia alusel eristuvaid erinevate *Dactylorhiza* populatsioonide rühmi. Näiteks loetles Hylander (1966) Skandinaavias viis *D. incarnata* (L.) Soo/ *D. maculata* (L.) Soo kompleksi liiki, Delforge (2001) aga 17 liiki.

Averyanovi (1988, 1989, 1990a, b, 1991, 1992) poolt koostatud süsteem, mis tugenes

eelmistele klassifikatsioonidele (Vermeulen, 1947; Senghas, 1968), jaotas perekonna nelja sektsiooni ja seitsmesse alamsektsiooni. Averyanovi liikide paigutuse süsteemi kasutavad paljud botaanikud (näiteks Delforge, 1995), kuid kasutavad vähem ametlikku jaotust gruppideks formaalsete sektsioonide ja alamsektsioonide asemel. (Shipunov et al., 2004)

Taksonoomilise keerukuse põhjusteks võib tuua

1. Perekonnas on palju noori liike, millel ei ole veel tekkinud hästi eristuvaid morfoloogilisi tunnuseid (Hedren, 2002)
2. Enamuste perekonna liikide vahel toimub vaba ja sagedane hübriidisatsioon (Soo, 1980; Stace, 1991), kusjuures peaaegu kõik hübriidide kombinatsioonid on võimalikud (Averyanov, 1990a)
3. Suur liigisisene fenotüüpide varieerumine ja taime vanus võivad tugevasti muuta nende morfoloogiat (Bateman ja Denholm, 1983; Andersson, 1996)

Veelgi enam, tsütoloogilistest, morfoloogilistest ja molekulaarsetest uuringutest pärit andmetest võib järeldada, et *Dactylorhiza* evolutsioonis, mida seostatakse viimase jääajaga, mängis suurt osa hübriidisatsioon diploidsete-, tetraploidsete - ning diploidsete ja tetraploidsete liikide vahel või diploidsete liikide hübriidisatsioonile järgnenud polüploidisatsioon. (Averyanov, 1990b; Hedren, 1996, 2002) mistõttu kujunes välja retikulaarne ehk võrgustunud fülogenees, kus ei saa rakendada hierarhilist taksonoomilist jaotamist (Vane-Wright et al., 1991).

Kuna *Dactylorhiza* liikide vahelised piirid varieeruvad, mõned on väga erinevad ja teised on praktiliselt eristamatud, toetatakse nende liigirikkuse määramisel pigem evolutsioonile ja fülogeneetilisele eristumisele (Faith, 1992; Mace et al., 2003).

Hiljutised allosüümsete markerite uuringud (nt. Hedren, 2002) tõestasid mõndade *Dactylorhiza* liikide (*D. fuchsii* (Druce) Soo, *D. incarnata*) diploidsuse, vähemalt üks liik oli autopolüploidne (*D. maculata* sensu stricto[s.s.]) ja kolmandal liikide grupil on autotetraploidne päritolu (nt. *D. majalis* (Reichb.) P.F.Hunt & Summerhayes). ITS (internal transcribed sequences) sekveneerimisel (Bateman et al., 1997, 2003) baseerunud molekulaarsed uuringud ja AFLP (amplified fragment length polymorphism) analüüsid (Hedren, 2002) näitavad, et *Dactylorhiza* perekond koosneb viiest grupist (Bateman ja Denholm, 2003, Bateman et al., 2003):

1. *Dactylorhiza incarnata* (Kahkjaspunane sõrmkäpp) grupp, kuhu kuuluvad *D. euxina* (Nevski) Czerep. ja *D. umbrosa* (diploidid)

2. *Dactylorhiza maculata* (Kuradi-sõrmkäpp) grupp, kuhu kuuluvad *D. fuchsii* (Vööthuul-sõrmkäpp), *D. saccifera* (Brongn.) Soó, *D. foliosa* (diploidid)
3. *Dactylorhiza majalis*'e grupp, kuhu kuuluvad allotetraploidsed liigid *D. traunsteineri* (Saut. ex Rchb.) Soó, *D. baltica* (Klinge) Orlova (Balti sõrmkäpp), *D. russowii* (Klinge) Holub (Russowi sõrmkäpp), *D. praetermissa* (Lääne-sõrmkäpp), *D. purpurella* (T & T.A Stephenson) Soo ja nendega seotud liikidevahelised hübriidtaksonid.
4. *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soo (Leeder-sõrmkäpp) grupp, kuhu kuuluvad *D. romana* ja *D. flavescens* (diploidid)
5. „primitiivsed diploidid“ ehk *D. aristata*, *D. viridis* (= *Coeloglossum viride*) (Rohekas õöskeel) ja *D. iberica*.

Fülogeneetiliste uuringute põhjal (Pillon et al., 2006) selgus, et fülogeneetiline varieeruvus ei ole vastavuses samas piirkonnas esinevate liikide arvuga, mida võib seletada sellega, et enamus *Dactylorhiza* liike kuulub *D. incarnata*/*D. maculata* polüploidide kompleksisse, mille siseselt on liigiteke hübriidisatsiooni teel üpris tavaline (Hedren, 2001b). *Dactylorhiza* puhul on isegi kahtlusatud sugukonna lõhestumist tänu erakordsele morfoloogilisele variatsioonile. *D. incarnata*/*D. maculata* polüploidide kompleksi saab omakorda jaotada kolme gruppi: *D. incarnata* sensu lato (s.l.), *D. maculata* s.l ja nende vahelise hübriidiseerumise teel tekkinud allotetraploidid (Hedren, 2001b).

Morfoloogilistest ja tsütoloogilistest uuringutest pärit andmed on näidanud, et mõned liigid on hiljuti tekkinud ja võivad olla hübriidset päritolu. Allotetraploidsed liigid on arenenud korduvalt kahest algsest diploidsest vanemliinist. Nendesse liinidesse kuuluvad säilinud diploidsed ja autotetraploidsed liigid, millest võivad ikka veel tuleneda uued allotetraploidid. Arvatakse, et perekonnasisesel liigitekkel domineerib allotetraploidisatsioon tagasirustumise üle. Enim levinud ja tavalisemaid allotetraploidseid liike võib iseloomustata nende allosüümide tunnuste kaudu, mis näitavad, et igal liigil võib olla oma päritolu ja et nad liikusid praegustele levialadele vanadest elupaikadest. Samas on võimalik, et mõned allotetraploidid hõlmavad kohalikke populatsioone, mis tekkisid vanemliikidest iseseisvalt (Hedren, 1996).

Hiljuti sooritatud morfomeetrilised uuringud on näidanud, et *Dactylorhiza* allotetraploididel leitud morfoloogilised tunnused asetavad nad üldiselt *D. incarnata* ja *D. fuchsii* vahele (nt. Tyteca ja Gathoye, 1993). Biokeemiliste ja molekulaarsete meetoditega on võimalik leida markereid, mille abil saab uurida liikidevahelisi pärilikkus-, vanem- ja hübriidisatsioonisuhteid. Allosüümsete markerite (Hedren, 2002), AFLP'de (Hedren et al.,

2001), plastiidide markerite ja ITS alleelide (Y. Pillon, avaldamata andmed) ja plastiidide RFLP'de (Hedren, 2003) tehtud uuringud on näidanud et:

- 1) Enamus allotetraploide on tõepoolest *D. incarnata* ja *D. fuchsii* või *D. maculata* hübriidid
- 2) Nad on kõik korduvalt tekkinud ja tõenäoliselt tekivad ka praegu.
- 3) Enamiku Lääne-Euroopa allotetraploide saab ära tunda vanemliikide molekulaarsete tunnuste järgi
- 4) Enamus allotetraploide on pärinud oma plastiidsed markerid *D. incarnata* asemel hoopis *D. fuchsii* või *D. maculata*'lt, mis, tänu sellele, et käpaliste plastiidid pärinevad ainult emastaimelt näitab, et *D. fuchsii* ja *D. maculata* on tihedamini emasvanemad.
- 5) Mõned allotetraploidid on omandanud markerid, mida ei ole siiani leitud vanemliikidel (Hedren et al., 2001; Hedren, 2003; Devos et al, 2003; Y. Pillon avaldamata andmed, Shipunov et al., 2004)

4. Balti sõrmkäpp – *Dactylorhiza baltica* (Klinge) Orlova

4.1. Liigi taksonoomia ja levik.

Üks paljudest eespoolkirjeldatud problemaatilistest polüploididest, mida on vähe uuritud, on *Dactylorhiza baltica*, mis levib erinevalt teistest varem nimetatud allotetraploididest erinevalt mitte Lääne-Euroopas vaid pigem Saksamaa idaosas, Poolas, Baltimaades, Soome lõunaosas ja Venemaal. Leviku läänepiirid on vähem kindlalt paika pandud, osad autorid (Nevski, 1935; Smoljaninova, 1976) väidavad, et liigi levik piirdub Euroopa Venemaa lääneosadega (Pskovi ja Peterburi regioonides), sealhulgas ka mõned leiupaigad Uuralite põhjaosas ja Lõuna-Siberis, teised jällegi arvavad et *D. baltica* levib terve Euroopa Venemaa ulatuses kuni (polaarjoone ja 50 põhjalaiuse vahel) kuni Uuraliteni välja (Soo, 1980; Averyanov, 1990b). Praeguseks leitud tõendusmaterjal näitab, et Uuralite lõunaosas leitud „*D. baltica*“ populatsioonid on valesti määratud ja et neid tuleks tegelikult lugeda *Dactylorhiza fuchsii*'ks (Kulikov ja Filippov, 1999). Sellest järelduvalt peetakse praeguseks *D. baltica* levikupiirideks Euroopa Venemaal 50 ja 60 põhjalaiuse vahel ja läänest kuni 60 pikkuskraadini (Joonis 1).

Esimest korda kasutas epiteeti 'baltica' Klinge (1895, 1898) 'Orchis' latifolia L. nom illeg. (= *Dactylorhiza majalis*) alamliigina. *D. majalis* on Lääne-Euroopas levinud liik, mis on samuti üks polüploidide kompleksi liikmeid (Averyanov, 1990b). Alamliigist liigiks ülendas

D. baltica Nevski (1935), kuna *D. majalise s.s* ja *D.baltica* vahel on märgatavaid morfoloogilisi erinevusi, eriti lehe ja huule kujus. Praeguseks peavad enamus autoreid *D. baltica*'t eraldi liigis ja pakuvad tema lähedasemateks sugulasteks *D. praetermissat* ja *D. purpurellat* (nt. Vermeulen, 1947; Senghas, 1968; Averyanov, 1990b). Morfoloogilised tunnused *D. baltica* eristamiseks on autoriti erinevad, kuid enamus kirjeldusi märgivad olulistena pikki teravaotsalisi lehti, lühikest õisikut ja suhteliselt laia huult väikeste külje peal asuvate hõlmadega. (Shipunov et al., 2005)



Joonis 1. Arvatav *Dactylorhiza baltica* levila Euroopas (Averyanov, 1990a; Kulikov ja Filippov, 1999). Tähed kaardil märgistavad Averyanovi eksemplaride kogumiskohti.

4.2 *Dactylorhiza baltica* morfoloogia, bioloogia, ökoloogia

Dactylorhiza baltica on 25-60 (kuni 75) cm kõrgune 3-5 lõhese juuremugulaga taim. Vars on tal alaosas õõnes lehistunud, sirgelt püsti ja ülaosas sageli lillakas. Varre alusel kaks-kolm labata lehetuppe, ülemisel neist esineb siiski vahel lühike laba. Lehed on lamedad, paiknevad üksteisest võrdsete vahede kaugusel. Kõige suuremad on alumised 2-4 lehte, nad on 7-15 (kuni 22) cm pikad ja 1,5 (harvem 1) kuni 2,5 (3,3) cm laiad. Alumised lehed on keskkohast ja aluselt ühesuguse laiusuga, varrega ühendab neid 3-5 cm. pikkune tupp. Kaks alumist lehte on ümarterava tipuga, järgnevatel pikkamööda teravnev tipp. Ülemised lehed on palju väiksemad, püstised, 3-7 (harvem 11) cm pikad ja 4-8 cm laiused. Ülemisi lehti on 2-4 ja nad on terava tipuga, kusjuures kõige ülemiste lehtede paar (või ainult ülemine leht) on kandlehtede taolised. Lehtede ülemisel poolel asuvad tumedad, enam-vähem ristkülikukujulised või rombjad laigud, mis on vahel lehe tipuosas seest rohekad. Sügiseks muutuvad täpid tihti vähemkontrastseks, väga harva täpid puuduvad. Lehe alumine pool on hallikasroheline. (Schmeidt, 1996; Kuusk, 1984)

Õisik on *D. baltica* 4-9 cm pikk ja diameetriga 3-4 cm, tähkjas, lüherulja kujuga ja väga tihe, kuni 40 spiraalselt asetseva õiega. Märjematel aladel kasvavatel isenditel on pikem ja hõredam õisik (kuni 13 cm) ja ka taim ise on kõrgema kasvuga. Lehed ulatuvad õitsemise alguses õisikuni, pärast pikenenud varre tõttu enam ei ole. Alumiste õite kandlehed on õitest pikemad, 2-3 cm pikkused, teravatipulised ja kitsassüstja kujuga, keskmiste ja ülemiste õite kandlehed on õitega samapikkused või lühemad (Tabel 1.).

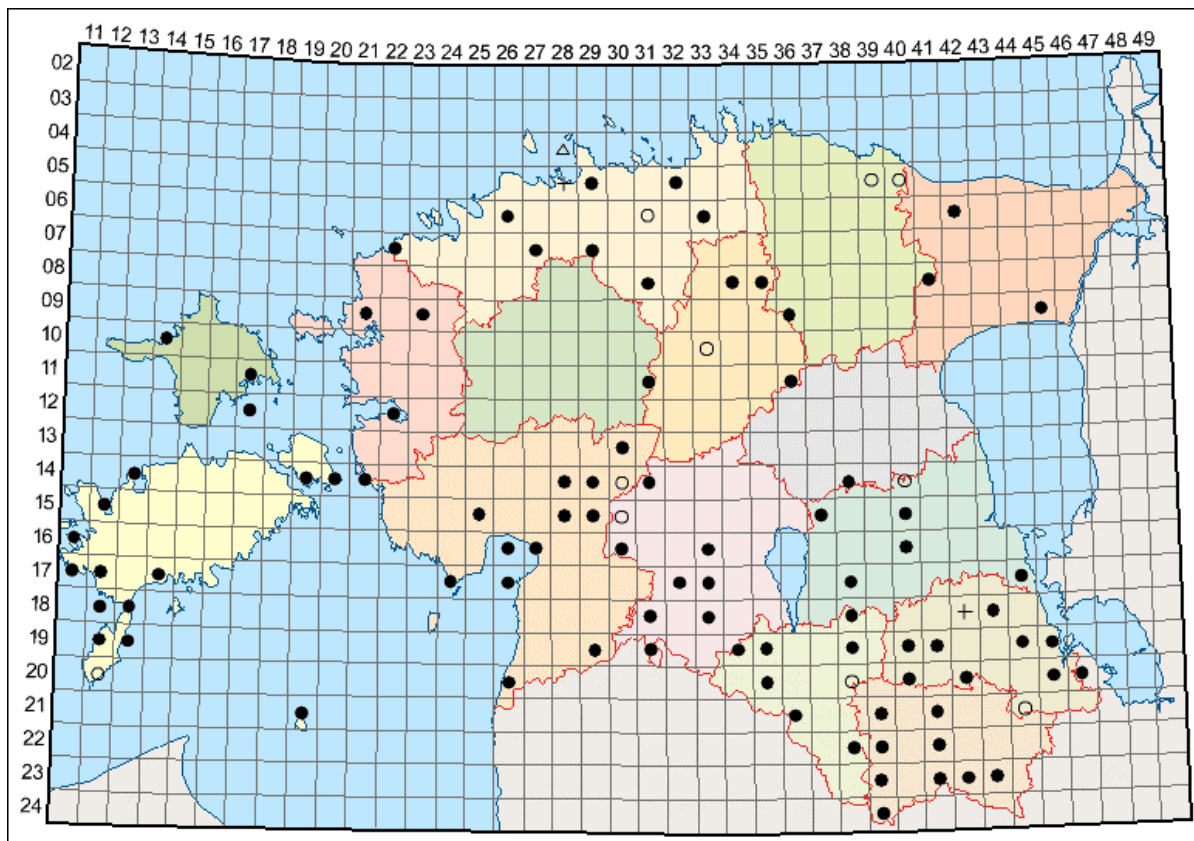
Õied on tavaliselt roosakasvioletsed, selge purpurvioletsede joontega huulel ja välimistel perigoonilehtedel. Lõhna õitel ei ole. Kõik õiekattelehed on tõmbivõitu tipuga. Välimised külgmised õiekattelehed on ebavõrdselt kitsasmunaja kujuga, kaldus, 7-10 mm pikad ja 3,2-4 mm laiad, välimine ja keskmine õiekatteleht veidi lühem ja nõgus. Sisemised külgmised õiekattelehed on väiksemad, 6 mm pikkused ja 2-3 mm laiused ning hoiavad tihedalt vastu välimist keskmist lehte. Õie huul on selgelt kolmehõlmane, kergelt kumer või lame. Huule keskväli on helevioletne, sellel asub tumedam purpurvioletne joonis. Laiuseks on huulel 7-13 mm ja pikkuseks 7-10 mm. Huule külgmised hõlmad on külgedele suunatud, laiad, tõmbi tipuga ja mõne ebaselge hambaga, kusjuures keskmine hõlm on tunduvalt kitsam ja munajaskolmnurkse kujuga, külgmiste vahelt välja ulatuv ja ümara tipuga. Kannus on roosakasvioletne, sigimikust lühem, sirge, 6-9 mm pikkune, ruljas, aheneva ümara tipuga ja suunatud kandega alla. Õitseb juunis ja juulis. (Kuusk, 1984; Schmeidt, 1996)

Dactylorhiza baltica on putuktolmeja, kuid õienektar tal puudub – tegu on petjaga, mis eredavärvilise õisikuga putukaid ligi meelitab. Seemned levivad tuule abil üpris kaugemale, on teada mõned uued leiupaigad Soome lõunaranniku saarestikus. Kuna orhideedel on seemnetega paljunemine väga keeruline protsess, paljuneb *D. baltica* üpris efektiivselt vegetatiivsel teel. Noori juuremugulaid tekib mitu- mõlemal pool vana mugulat, mõnikord ka vana mugula harude küljes, mistõttu moodustavad *D. baltica* mugulast ja tema tütar mugulatest kasvavad võsud tihedate kimpude kogumikke. Taimede puhul, mis on arenenud vegetatiivsel teel võib täheldada, et pärast õitseikka jõudmist areng ei peatu, vaid läheb 3-6 aastat pärast esmasõitsemist, kuni taim saavutab enam-vähem maksimumi ning ei kasva suuremaks. Kõik vegetatiivsel teel arenenud taimed on emastaimega identse genoomiga ehk kloonid (Kuusk, 1984).

Niiskuslembese taimena eelistab balti sõrmkäpp kasvada veekogude läheduses, tüüpilisteks kasvukohtadeks on ranna- ja luhaniidud, soostunud heinamaad, madalsooservad ja allikate ümbrus. Eelistab liikuvat ja hapnikurikast vett, soovett hästi ei talu (Schmeidt, 1996). Enamasti on tema kasvukohtade muld veidi savikas ja küllaltki viljakas. Kuna viljakal mullal kasvavad hästi ka teised rohhtaimed ja võsa, kipuvad balti sõrmkäpa kasvukohad kiiresti kinni kasvama, kui neil lõpeb traditsiooniline inimtegevus, nagu karjakasvatamine või

heinategu. (Kull ja Tuulik 2002; Schmeidt, 1996)

Balti sõrmkäpp on Eesti Punasesse Raamatusse märgitud kui tähelepanu vajav liik, põhilisteks ohuteguriteks on korjamine, niitude ja karjamaade võsastumine niitmise ja/või karjatamise katkemise tõttu; veekogude muutmine ja soode kuivendamine (V. Kuusk,1998)



Joonis 2. *Dactylorhiza baltica* levikukaart Eesti kohta (<http://www.orhidee.ee/liik.jsp?id=7>)

Märkide seletus:

●- leitud 1971 ja hiljem

○- leitud 1921-1970

△- leitud enne 1921

+ - hävinud leiukoht

? – küsitav leiukoht

4.3 *Dactylorhiza baltica* evolutsioon erinevate molekulaarsete andmete alusel Venemaa populatsioonides.

D. baltica on väga huvitav, kuid Euroopas suhteliselt vähe uuritud liik, põhjuseks võib tuua tema levila, mis ei kattu eriti teiste, samamoodi teadlasi huvitavate allotetraploidsete sõrmkäppade levilatega. Venemaal on teda uuritud märksa rohkem. Arvatakse, et tegu võib olla nn. "sillaga" kohalike diploidsete taksonite vahel. Tema päritoluks pakutakse, nagu ka eespool mainitud, hübriidisatsiooni *D. fuchsii* ja *D. incarnata* agregaatide (s.l) vahel. (Shipunov et al., 2005)

Oma uuringuis kasutasid Shipunov kolleegidega kahte komplekti markereid (kloroplasti SSR ja ITS), nendele lisaks kahte tuuma mikrosatelliitide markerit, mis tundusid olevat rohkem varieeruvad, kui ITS, andes rohkem informatsiooni arvatavate vanemliikide populatsioonide struktuuri kohta. Kasutati ka PCA'd (principle component analysis) ja MDS'i (multidimensional scaling) idiviidide ja populatsioonide morfoloogiliste andmete peal.

Enamikul analüüsitud *D. baltica* isenditel on sama haplotüüp (unikaalne plastiidide fragmentide pikkuste kombinatsioon, erinevatest genoomi regioonidest), mis on tüüpiline *D. fuchsii*'le, kuid mitmetes populatsioonides leidis ka *D. incarnata*le iseloomulikke haplotüüpe. Enamustel taimedel on rohkem kui üks ITS alleel, millest kõige sagedasemad olid *D. incarnata* ja *D. fuchsii* alleelid (mõnedes proovides leidis ka *D. maculata* ITS alleele). Tuuma mikrosatelliitide alleelides on samuti enamus *D. incarnata* ja/või *D. fuchsii* omad. Enamuste populatsioonide proovid näitasid suuremat alleelide arvu võrreldes arvatavate diploididega (1-2 alleeli) ja mitmetel allotetraploididel oli kuni 4 alleeli.

Analüüsid näitasid, et tuuma markerite polümorfism oli *D. baltica* ja *D. fuchsii* vahel kõrgem kui *D. incarnata*'l. Mõned leitud alleelid osutusid liigispetsiifilisteks ehk diagnostilisteks uuritud alleelide jaoks. Samas, Shipunov leidis, et tuuma mikrosatelliitide alleelide jaotus on keeruline, ja raske öelda milline, kui üldse, on tüüpiline teatud vanemliigile. Mõned alleelid on väga sagedased ühes liigis (nt. *D. incarnata*'l), kuid vahel esinevad ka teises (nt. *D. fuchsii*), ning on tavalised *D. baltica*'s, mida võis oodata, kuna *D. incarnata* puhul on tegemist *D. baltica* vanemliigiga.

Kui need alleelid esinevad teises vanemas, on nad tihti seotud ka teise liigi ITS-alleeliga, mis annab kaks tõestust tagasiristumise kohta. Selliseid mikrosatelliitide alleelide jaotumise variante populatsiooniti on mitmeid, kuid nendest tekkinud muster näitab et kõigis kohalike liikide, nii vanemliikide kui allotetraploidide, populatsioonides on sarnased mikrosatelliitide alleelid.

Nii PCA kui MDSi tulemused morfoloogiliste andmete põhjal näitasid sarnaseid

mustreid haplotüüpide ja ITS alleelide jaotumisega. Üksikisendite uurimisel osutusid olulisteks määravateks tunnusteks taimede kõrgus, kõik lehe tunnused ning õisiku pikkus, populatsioonide puhul aga kannuse pikkus, varre läbimõõt ja lehtede pikkus.

Morfoloogiliste andmete, ITS alleelide ja tuuma mikrosatelliitide analüüs andis väga sarnased tulemused vaid morfoloogiliste tunnuste analüüsile, näidates, et tegu on sobituvate andmetega. Kõikide tunnuste (eelmistele lisaks ka plastiidide haplotüübid) jaotasid aga *D. baltica* isendid kahte rühma, vastavalt haplotüübile ja emasliini vanemale. Populatsioonide analüüs samal meetodil andis sarnaseid tulemusi.

Kokkuvõttes näitasid need analüüsid, et enamikul *D. baltica* populatsioonidel on selged sidemed nende arvatavate eellasliikidega, kas *D. fuchsii* või *D. incarnata* või vahel ka mõlemaga, mis tõestab hüpoteesi, *D. baltica* päritolu kohta nende kahe liigi hübriidiseerumise teel. Kuigi *D. fuchsii* ja *D. maculata* on morfoloogiliselt raskesti eristatavad, on nad molekulaar tasandil selgelt eristuvad ja on selge, et markerid *D. baltica*'s on pärit *D. fuchsii* ja *D. incarnata*'lt ja vaid mõnedel üksikutel juhtudel *D. maculata*'st.

Alleelide ja haplotüüpide vahetus vanemliikide diploidide vahel sobib teooriasse, et allotetraploidid moodustavad 'silla' diploidsete liikide vaheliseks geenisiirdeks. Samuti on võimalik, et osa *D. baltica* indiviididest on esmased, diploidsed *D. fuchsii* ja *D. incarnata* hübriidid, mis näitab et vahetus toimub otseselt mitte allotetraploidide kaudu. *D. baltica*'t on kergem kujutada 'sillana' seetõttu, et *D. incarnata* varane ja *D. fuchsii* hiline õitsemisperiood ei kattu, kuid *D. baltica* õitsemisaeg kattub mõlemaga, olles vahepealne variant. Kuna ei ole andmeid di-, tri- ja tetraploidide sageduse kohta *D. baltica* populatsioonides, ei saa otseselt väita, et nad on geenisiirde vahendajateks, kuid see on hetkel kõige tõenäolisem variant (Shipunov et al., 2005)

Shipunov kollegidega (2005) pakkus oma uurimuste tulemusena välja nimekirja tunnustest, mida saab kasutada *D. baltica* määramiseks kindlate üksikute tunnuste alusel, olgu selleks lehel asuvad tähnid, lehe pikkus või lateraalsete huulehõlmade pikkus.

5. Saaremaa sõrmkäpp - *Dactylorhiza osiliensis* T. Pikner sp. nova.

5.1 *Dactylorhiza osiliensis*'e avastamise lugu.

2000 aastal leiti Saaremaa läänerannikult metsastunud madalsoosdes kasvamas mitu määramata sõrmkäppade populatsiooni, mis algselt määrati *Dactylorhiza praetermissa*'ks, kuid hiljem jõuti teiste leidude põhjal järeldusele, et tegu on tundmatu liigiga, mis võib olla osade botaanikute arvates *D. praetermissa* sugulane (Pikner ja Delforge, 2005). 2004 ja 2005

aastal tehtud ulatuslike uuringute käigus leiti 0.5- 0.2 km kauguselt merekaldast mööda Vilsandi Rahvusparki kagupiiri umbes 2 km² suurusel maa-alal ligi 3000 õitsevat taime, millele lisandus sadu vegetatiivseid eksemplare (Delforge ja Kreutz, 2005). Pärast põhjalikke arutelusid, määramisi ja *D. praetermissaga* võrdlemist, leiti, et tegemist on eraldi liigiga ja see nimetati Saaremaa sõrmküpaks ehk *Dactylorhiza osiliensis*'eks (Pikner ja Delforge, 2005).

Enamus morfoloogilisi näitajaid, sh. varresisene õõnsus, mille läbimõõt ei ületa poolt varre diameetrit, õie mõõtmed, üldine taime robustsus ja õitsemisaeg, jääb *D. incarnata* ja *D. fuchsii* vahele, näitab et *D. osiliensis* kuulub samasse gruppi, kui *D. praetermissa* ja ka eespool kirjeldatud *D. baltica* (Delforge, 1994, 1995, 2001, 2002, 2005). Et kontrollida *Dactylorhiza osiliensis* hübriidpäritolu, tuleks võrrelda tema ja oletatavate vanemliikide geneetilist eristumist, kasutades selleks molekulaargeneetilisi markereid, näiteks isoensüüme ja DNA SSR-e.

Põhjuseid, miks seda liiki varem ei avastatud tuuakse mitmeid. Esiteks, *Dactylorhiza* liikide määramine on keeruline isegi ekspertidele, nii et seda võidi varem valesti määrata *D. incarnata*'ks, *D. baltica*'ks või *D. curvifolia*'ks. Teiseks, maa-ala, millel *D. osiliensis* kasvab, pole kunagi kasutatud, mistõttu käis seal aastate jooksul väga vähe inimesi. Samuti mängis rolli see, et NSVL ajal oli nii Saaremaa, nagu ka paljude teiste saarte, kaldajoonest 3 km piirivalveala, kuhu oli tsiviiliskutel väga raske pääseda ja kohalikku elustikku uurida (Pikner ja Delforge, 2005)

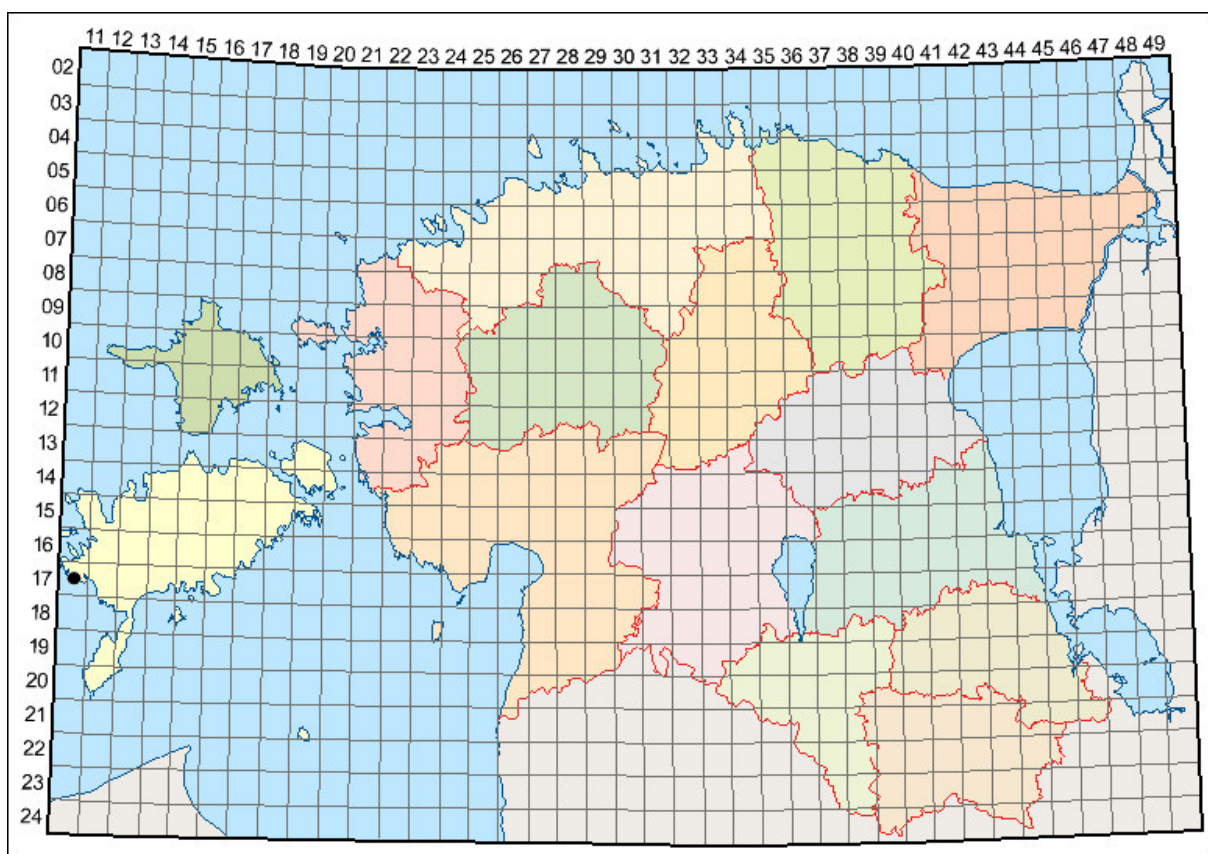
5.2 *Dactylorhiza osiliensis*'e kirjeldus, bioloogia ja ökoloogia

Dactylorhiza osiliensis on sale, kuid tugev, (40-) 50 kuni 70 (-91) cm kõrge roheline seest õõnsa varrega taim. Sisemise õõnsuse läbimõõt ei ületa poole varre diameetrit. Lehti on tal 5-9, alumisi lehti 1. Värvilt on lehed kollakasrohelist, tähnideta, altpoolt hallikasrohelist ja ei ulatu kunagi õisikuni. Kujult piklik-odajad, 10-20 cm pikad ja 1.8-2.5 cm laiad. Teine leht on kõige suurem, renjas kuni lame, vahel õrnalt kaardunud. Õisiku kandlehti lehti 2-3. Õisik on suhteliselt tihe, silindriline või munajas, kõrguseks on 7-14 cm. Õie kandlehed on odajad, rohelist ja õiest pikemad, alumised õie kandlehed palju pikemad, kui ülemised, 35-50 mm pikad. Õisi on 20-50, nad on suhteliselt suured, alati purpurvioletsed. Külgmised õiekattelehed kitsasmunajad, 11-14 mm pikad ja 3-4 mm laiad, jooniseta, horisontaalse või nurga all püstise asendiga. Ülemine õiekatteleht paindub üle kroonlehtede, mis on 8-9mm pikad ja 3-4 mm laiad, moodustades pikliku kiivri. Huule laius (12-15) on suurem kui pikkus (10-12). Huul on südajas, ülevalt poolt laiem, pikkupidi volditud ja õrnalt kolmehõlmane. Huule alus on lillakasroosast-valgeni varieeruva värvusega, väikeste lillade täppidega.

Keskmine hõlm natuke teravdunud otsaga, etteulatuv, pikem ja kitsam, kui külgmised hõlmad, mis on lamedad või veidi ettepoole kumerad. Kannus 10-11 mm pikk, 3-4 mm lai, helelilla, koonusekujuline ja asetseb peaaegu horisontaalselt. Sigimik on kannusest pikem, 13-15mm. (Pikner ja Delforge, 2005), (Tabel 1.).

Õitsemisaeg langeb Juuni teisest poolest Juuli esimese pooleni.

Dactylorhiza osiliensis eelistab kasvada avatud ja väga niisketes kohtades, kus ta kujuneb domineerivaks *Dactylorhiza* liigiks. Vähem levinud metsastunud alade poolvarjulistes servades, samuti on leitud paar isendit väga lähedal lubjarikkale kruusatee servale, kuid on seal palju väiksemad. See kõik näitab, et *D. osiliensis* on väga spetsialiseerunud liik, väga kitsaste ökoloogiliste vajadustega. Tema kasvukohad on tuntud elupaigad paljudele kitsalt spetsialiseerunud ja piiratud liikidele, sealhulgas paljudele Euroopas haruldastele liikidele (Pikner ja Delforge, 2005).



Joonis 3. *Dactylorhiza osiliensis* levikukaart Eesti kohta (<http://www.orhidee.ee/liik.jsp?id=37>)

Märkide seletus:

- leitud 1971 ja hiljem

Tabel 1. *Dactylorhiza baltica* ja *D. osiliensis* morfoloogiliselt tähtsate näitajate võrdlus (kõik mõõdud millimeetrites).

Tunnus	<i>D. baltica</i>	<i>D. osiliensis</i>
Taime kõrgus	250-700	(400-) 500-700 (-910)
Lehe pikkus	90-250	145-200
Lehe laius	15-40	18-25
Tähnid (0- puuduvad, 1- kergelt, 2- tugevalt)	1-2	0
Õisiku pikkus	20-100	70 – 140
Alumise õie kandlehe pikkus	>20	37.8 (keskmiselt)
Kannuse pikkus	6-9	9.5-11
Huule pikkus	6-9	9.7-12.3
Huule laius	7-13	12-15

(Pikner ja Delforge, 2005 ning Shipunov et al., 2005 järgi)

Kokkuvõte

On olemas mitmeid erinevaid liigitekke viise. Allopatrilise liigitekke puhul jaguneb liik osadeks geograafilise eraldatuse tõttu, mis viib populatsioonide divergeerumisele. Sümpatrilise liigitekke puhul jaotub liik eri nišile spetsialiseerudes aina rohkem eristunud osadeks ilma geograafilise isolatsioonita. Need on klassikalise liigitekke põhiviisid ja nende toimumiseks läheb väga kaua aega. On ka teisi liigitekke viise, mis toimuvad palju kiiremini.

Hübriidliigiteke põhineb samade või erinevate liikide hübriidide muutumisel vanemliikidest iseseisvateks üksusteks nende vahele moodustuvate ristumisbarjääride tõttu. Hübriidliigid võivad tekkida kas ühe liigi või kahe erineva liigi ristumisel, kusjuures viimane on neist märksa sagedasem. Erinevatest liikidest pärit kromosoomidega polüploidset hübriidi nimetatakse allopolüploidiks. Üheks võimalikuks ristumisbarjääri tekkimise viisiks on polüploidiseerumine. Suurenenud kromosoomide arv võimaldab suuremat bioloogilise mitmekesisuse arengut, mis omakorda võimaldab uute elupaikade hõivamist, kuna liigseid geenikomplekte saab probleemideta muteerida uuteks, uue keskkonnaga kohastunud geenideks, mille peal rakendub looduslik valik.

Perekond *Dactylorhiza* on taksonoomiliselt väga keeruline, kuna tema liigid on väga varieeruvad ja liikide vahel esineb tihti hübriidiseerumist ja polüploidiseerumist.

Dactylorhiza baltica ja *D. osiliensis*'e puhul on tegemist suhteliselt hiljuti tekkinud allotetraploidsete hübriidliikidega, mis on siiani vähe uuritud. *Dactylorhiza baltica* Venemaa populatsioonide uuringud näitasid, et tema moodustab arvatavate vanemliikide vahelise nn. geenisiirde silla.

Dactylorhiza baltica Eesti populatsioonid pakuvad erilist huvi, kuna asuvad Euroopa ja Venemaa vahel ja nende geneetiline mitmekesisus võib täpsustada selle liigi päritolu.

Dactylorhiza osiliensis'e molekulaargeneetiline varieeruvus alles ootab oma avastamist.

Tänuavaldused.

Soovin avaldada suurt tänu abivalmiduse ja kannatlikkuse eest oma juhendajale, **PhD. Tatjana Ojale**, kes aitas mind käesoleva töö koostamisel.

Summary

Speciation is a very important process in all forms of life. It is generally characterised by the evolution of barriers to genetic exchange between different populations. There are several different factors that affect the development of the aforementioned barriers. The most common factor that separates populations is geographical isolation. When gene flow between two groups stops, they will develop traits more accustomed to their surroundings, which will eventually result in the formation of reproductive barriers between the groups. That process is referred to as allopatric speciation. When a population or a group of populations is spread over a large area, new lineages may develop on the remote borders of the group. It is also possible for new species to evolve without geographic separation, although a strong barrier to gene flow is still necessary. All these processes take a very long time to establish, but there are much quicker ways for new species to evolve.

Hybridisation is very common among plants. Sometimes, under certain conditions, some hybrids become separated from the parental species and form a new, independent hybrid species. One of the ways for that to happen is polyploidisation, which causes an instant genetic barrier between the hybrid and its parents.

The genus *Dactylorhiza* is notorious for its complex reproductive strategies and even more complicated taxonomy. Almost all species of the genus can hybridise freely among themselves and allotetraploids (polyploid hybrids of different species) are very common.

Dactylorhiza baltica and *D. osiliensis* are two putative allotetraploid Estonian species. Fairly recently discovered (very recently for *D. osiliensis*), they haven't been researched nearly as much as they deserve.

Lisad

Lisa 1. Pildid.

Dactylorhiza baltica



Dactylorhiza osiliensis (T. Pikneri fotod)



Kirjanduse loetelu

Andersson, E. (1996). Morphological variation in the orchid *Dactylorhiza traunsteineri*: scale and systematic implications. *Comprech. Summ. Uppsala Diss. Fac. Sci. Techn.* 186: 1-25.

Arnold, M. L. (1994). Natural hybridisation and Louisiana irises. *Bioscience* 44: 141-147.

Arnold, M. L. (1997). Natural hybridisation and evolution. Oxford University Press, New York.

Averyanov, L. V. (1988). A review of genus *Dactylorhiza* Neck ex. Nevski (*Orchidaceae*), 1 (vene keeles). *Novosti Sistematiki Vysshikh Rastenij*, 25: 48-67.

Averyanov, L. V. (1989). A review of genus *Dactylorhiza* Neck ex. Nevski (*Orchidaceae*), 2 (vene keeles). *Novosti Sistematiki Vysshikh Rastenij*, 26: 47-56.

Averyanov, L. V. (1990)a. A review of genus *Dactylorhiza* Neck ex. Nevski (*Orchidaceae*), 3 (vene keeles). *Novosti Sistematiki Vysshikh Rastenij*, 27: 32-62.

Averyanov, L. V. (1990)b. A review of the genus *Dactylorhiza*. In Arditti, J., (Eds.): *Orchid biology: reviews and perspectives*, pp. 159-206. V. Timber Press, Portland, Oregon.

Averyanov, L. V. (1991). A review of genus *Dactylorhiza* Neck ex. Nevski (*Orchidaceae*), 4 (vene keeles). *Novosti Sistematiki Vysshikh Rastenij*, 28: 33-42.

Averyanov, L. V. (1992). A review of genus *Dactylorhiza* Neck ex. Nevski (*Orchidaceae*), 5 (vene keeles). *Novosti Sistematiki Vysshikh Rastenij*, 29: 14-25.

Bateman, R. M., Denholm, I. (1983). A reappraisal of the British and Irish dactylorhids 1. The tetraploid march-orchids. *Watsonia* 14: 347-376.

Bateman, R. M., Denholm, I. (2003). The heath spotted-orchid (*Dactylorhiza maculata* L. Soo) in the British Isles: a cautionary case-study in delimiting infraspecific taxa and inferring their evolutionary relationships. *Journal Europäischer Orchideen*, 35: 3-36.

Bateman, R. M., Hollingsworth, P. M., Preston, J., Luo, Y. B., Pridgeon, A. M., Chase, M. W. (2003). Molecular phylogenetics and evolution of Orchidinae and selected Habenariinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnaean Society*, 142: 1-40.

Bateman, R. M., Pridgeon, A. M., Chase, M. W. (1997). Phylogenetics of subtribe Orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae) based on nuclear ITS sequences. 2. Infrageneric relationships and reclassification to achieve monophyly of *Orchis* sensu stricto. *Lindleyana* 12: 113-141.

Briggs, D., Walters, S. M. (1997). *Plant variation and evolution*, 3rd edition. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Buerkle, C. A., Morris, R. J., Asmussen, M. A., Rieseberg, L. H. (2000). The Likelihood of Homoploid Hybrid Speciation. *Heredity*, 84: 441-451.

Cameron, K. M., Chase, M. W., Whitten, W. M., Kores, P. J., Jarrell, D. C., Albert, V. A., Yukawa, T., Hills, H. G., Goldman, D. H. (1999). A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *American Journal of Botany*, 86: 208-224.

Chase, M. W. (1986). A reappraisal of the oncioid orchids. *Systematic Botany*, 11: 477-491.

Chase, M. W. (1988). Obligate twig epiphytes: a distinct subset of Neotypical orchidaceous epiphytes. *Selbyana*: 24-30.

Chase, M. W., Cameron, K. M., Barrett, R. L., Freudenstein, J. V. (2003). A phylogenetic classification of Orchidaceae. *In* Dixon, K. M., Kell, S. P., Barrett, R. L., Cribb, P. J (eds), *Orchid Conservation*, 69-89. Natural History Publications, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.

Chase, M. W., Hills, H. G. (1992). Orchid phylogeny, flower sexuality, and fragrance seeking. *BioScience*, 42: 43-49 .

- Chase, M. W., Palmer, J. D. (1988).** Chloroplast DNA variation, geographical distribution and morphological parallelism in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 75: 163- 164.
- Delforge, P. (1994).** Guide des Orchidees d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient. 480p. Delachaux et Niestle, Lausanne- Paris.
- Delforge, P. (1995).** Orchids of Britain and Europe. Harper Collins, London.
- Delforge, P. (2001).** Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient., 2nd ed. Delachaux et Niestlé Ed. Neuchâtel-Paris.
- Delforge, P. (2002).** Guia de las Orquideas de Espana y Europa, Norte Africa y Proximo Oriente. 592p. Lynx Edicions, Barcelona.
- Delforge, P. (2005).** Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient. 3rd ed. Delachaux et Niestle, Paris.
- Delforge, P., Kreutz, C. A. J., (2005).** Remarks on Estonian Orchids. *Natural. belges* 86: 21-56.
- Devos, N., Tyteca, D., Raspé, O., Wesselingh, R. A., Jacquemart, A.L. (2003).** Patterns of chloroplast diversity among western European *Dactylorhiza* species (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* 243: 85-97.
- Dressler, R. L. (1983).** Classification of the Orchidaceae and their probable origin. *Telopea*, 2: 413-424.
- Dressler, R. L. (1993).** Phylogeny and Classification of the Orchid Family. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ellstrand, N. C., Whitkus, R., Rieseberg L. H. (1996)** Distribution of spontaneous plant hybrids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 5090- 5093.

- Faith, D. P. (1992).** Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation*, 61: 1-10.
- Gavrilets, S., Vose, A. (2007).** Case studies and mathematical models of ecological speciation. 2. Palms on an oceanic island. *Molecular Ecology* 16: 2910-2921.
- Grant, V. (1981).** *Plant speciation*, 2nd ed. Columbia University Press, New York.
- Gross, B. L., Rieseberg, L. H. (2005).** The Ecological Genetics of Homoploid Hybrid Speciation. *Journal of Heredity*, 96: 241- 252.
- Hardig, T. M., Brunsfield, S. J., Fritz, R. S., Morgan, M., Orians, C. M. (2000).** Morphological and molecular evidence for hybridisation and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Mol. Ecol.* 9: 9-25
- Hedren, M. (1996).** Genetic differentiation, polyploidization and hybridization in northern European *Dactylorhiza* (Orchidaceae): evidence from allozyme markers. *Journal Plant Systematics and Evolution*, 201: 31-55.
- Hedren, M. (2001)a.** Conservation priorities in the taxonomically complex genus *Dactylorhiza*, a taxonomically complex genus. *Lindleyana* 16(1): 17-25.
- Hedren, M. (2001)b.** Systematics of the *Dactylorhiza euxina/incarnata/maculata* polyploid complex (Orchidaceae) in Turkey: evidence from allozyme data. *Journal of Plant Systematics and Evolution*, 229:, 23-44
- Hedren, M. (2002).** Speciation patterns in the *Dactylorhiza incarnata/maculata* polyploid complex (Orchidaceae): evidence from molecular markers. *Journal Europäischer Orchideen* 34: 707- 731
- Hedren, M. (2003).** Plastid DNA variation in the *Dactylorhiza incarnata/maculata* polyploid complex and the origin of allotetraploid *D. Sphagnicola* (Orchidaceae). *Molecular Ecology* 12: 2669-2680

Hedren, M., Fay M. F., Chase, M. W. (2001). Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) reveal details of polyploid evolution in *Dactylorhiza* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 88(10): 1868-1880.

Hylander, N. (1966). Nordisk kärlväxtflora. Almquist & Wiksell, Stockholm, Sweden.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., Donoghue, M. J. (2002). *Plant systematics*, 2:264-267. Sinauer Associates Inc. Publisher.

Kallak, H. (1986). Adaptatsioonigenees ja liigiteke. Tartu Riiklik Ülikool, Tartu.

Klinge, J. (1895). *Orchis latifolia* subsp. *baltica*. In Lehrmann, E. (ed), *Flora von Polnisch-Livland*, 188. C. Mattiesen, Jurjew.

Klinge, J. (1898). Dactylorhids, orchids subgeneris, monographiae prodromus. *Acta Horti Petropolitani*, 17:56.

Klinge, J. (1899). Die homo- und polyphyletischen Formenkreis der *Dactylorchis*-Arten. *Trudy Imp. S-Peterburgsk. Bot. Sada. XVII(II)*: 67-146

Kores, P. J., Weston, P. H., Molvray, M., Chase, M. W. (2000). Phylogenetic relationships within the Diurideae (Orchidaceae): inferences from plastid matK DNA sequences. In Wilson, K. L., Morrison, D. A. (eds), *Monocots: Systematics and Evolution*, 449-456. CSIRO, Melbourne.

Kukk, E. (1970). Selts orhideelaadsed – Orchidales. In Eichwald, K., Kalda, A., Masing, V., Parmasto, E., Trass, H. (toim). *Botaanika II – Süstemaatika*. 1:633-636. Valgus, Tallinn.

Kulikov, P. V., Filippov, E. G., (1999). *Dactylorhiza baltica* (Klinge) Orlova complex (Orchidaceae) in the Urals and western Siberia. *Bulletin of the Moscow Society of Naturalists, Biological Series* 104: 29-33.

Kull, T., Tuulik, T. (2002). Kodumaa käpalised, 1:60-61. Digimap OÜ, Tallinn.

Kuusik, V. (1984). Selts orhideelaadsed, *In* Eichwald, K, Kukk, E., Lellep, E., Mäemets, A., Rebasoo, H., Sander, R., Talts, S., Trei, T., Viljasoo, L. (eds), Eesti NSV floora. 9: 320-385. Valgus. Tallinn.

Kuusik, V. (1998). Soontaimed. *In* Lilleleht, V. (toim). Eesti punane raamat, 49-63. Eesti Teaduste Akadeemia Looduskaitse Komisjon, Tartu.

Leitch, A. R., Leitch, I. J. (2008). Genomic Plasticity and the Diversity of Polyploid Plants. *Science* 320: 481-483.

Levin, D. A. (1983). Polyploidy and Novelty in Flowering Plants. *The American Naturalist*, 122: 1

Mace, G. M., Gittleman, J. L., Purvis, A. (2003). Preserving the tree of life. *Science*, 300: 1707-1709.

McKinnon, G. (2005). Reticulate evolution in higher plants. *In* Henry, R. J. (ed), *Plant Diversity and Evolution – Genotypic and Phenotypic Variation in Higher Plants*, 81-93. CABI Publishing, Australia.

Nevski, S. A. (1935). Orchidaceae Lindl, *In*: Komarov, V. L. (ed), *Flora USSR*. 4: 589-730. Academy of Science Publisher, Leningrad.

Otto, S. P., Whitton, J. (2000). Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*, 34: 401-437.

Parmasto, E. (1996). Biosüsteematika teooria ja meetodid, 1: 9-20. Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu.

Pikner, T., Delforge, P. (2005). The Dactylorchid of the island of Saaremaa (Estonia), *Dactylorhiza osiliensis* Pikner sp. nova. *Natural. belges*, 86: 65-80.

Pillon, Y., Fay, M. F., Shipunov, A. B., Chase, M. W. (2006). Species diversity versus phylogenetic diversity: A practical study in the taxonomically difficult genus *Dactylorhiza* (Orchidaceae)

Ramsey, J., Schemske, D. W. (1998). Pathways, Mechanisms and Rates of Polyploid Formation in Flowering Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 467-501.

Raven, P. H. (1976). Systematics and plant population biology. *Syst. Bot.* 1: 284:316.

Rieseberg, L. R., Ellstrand, N. C. (1993). What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization. *Crit. Rev. Plant Sci*, 12: 213-241.

Rieseberg, L. R., Morefield, J. D. (1995). Character expression, phylogenetic reconstruction, and the detection of reticulate evolution. *In* Hoch, P. C., Stephenson A. G. (eds), *Experimental approaches to plant systematics (Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*, 53: 333- 353. Missouri Botanical Garden, St. Louis.

Rieseberg, L. R., Wendel, J. F. (1993). Introgression and its consequences in plants. *In* Harrison R. G. (ed), *Hybrid zones and the evolutionary process*, 70-109. Oxford University Press, New York.

Rieseberg, L. R., Willis, J. H. (2007). Plant speciation. *Science*, 317: 410-414.

Salazar, G. A., Chase, M. W, Soto Arenas, M. A., Ingrouille, M. J. (2003). Phylogenetics of Cranichideae with an emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae: Ordidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA sequences. *American Journal of Botany*, 90: 777-795.

Sargent, R. D., Otto, S. P. (2006). The role of local species abundance in the evolution of pollinator attraction in flowering plants. *The American Naturalist*, 167: 67-80.

Scacchi, R., Lanzara, P., De Angelis, G. (1987). Allozyme variation among and within eleven *Orchis* species (fam. Orchidaceae), with special reference to hybridising aptitude. *Genetica*, 81: 143-150

Schmeidt, O. (1996). *Eestima orhideed*, 4- 25; 93- 95. Varrak, Tallinn.

Schwarzbach, A. E., Donovan, L. A., Rieseberg, L. R. (2001). Transgressive character expression in a hybrid sunflower species. *American Journal of Botany*, 88: 270-277.

- Senghas, K. (1968).** Taxonomische Übersicht der Gattung *Dactylorhiza* Necker ex. Nevski. Jahresberichte des Naturwissenschaftlichen Vereins in Wuppertal, 21-22: 32-67.
- Shipunov, A. B., Fay, M. F., Chase, M. W. (2005).** Evolution of *Dactylorhiza baltica* (Orchidaceae) in European Russia: evidence from molecular markers and morphology. Botanical Journal of the Linnean Society, 147: 257-274
- Shipunov, A. B., Fay, M. F., Pillon, Y., Bateman, R. M., Chase, M. W. (2004).** *Dactylorhiza* (Orchidaceae) in European Russia: combined molecular and morphological analysis. American Journal of Botany, 91(9): 1419-1426
- Smoljaninova, L. A. (1976).** *Dactylorhiza* Nevski (vene keeles). Flora Evropejskoj Chasti SSSR, 2: 49-57.
- Soltis, D. E., Albert, V. A., Kim, S., Yoo, M.-J., Soltis, P. S., Frohlich, M. W., Leebens-Mack, J., Kong, H., Wall, K., dePamphilis, C., Ma, H. (2005)a.** Evolution of the flower. In Henry, R. (ed), Diversity and Evolution of Plants, 1:165-200. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S., Endress, P. K., Chase, M. W. (2005)b.** Phylogeny and evolution of angiosperms. 1: 104-107, Sinauer Associates Inc. Publisher.
- Soo, R. (1980).** *Dactylorhiza* Necker ex. Nevski. In Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., Webb, D. A. (eds) Flora Europaea. 5: 333-337. Cambridge University Press, Cambridge.
- Stace, C. A. (1984).** Plant taxonomy and biosystematics. Edward Arnold, London.
- Stace, C. A. (1991).** New flora of the British Isles. Cambridge University Press, Cambridge.
- Stebbins, G. L. (1959).** The role of hybridization in evolution. Proceedings of the American Philosophical Society, 103: 231-251.
- Summerhayes, V. S. (1985).** Wild orchids of Britain. Collins, London.

Sundermann, H. (1980). Europäische und Mediterrane Orchideen, ed. 3. Brücke-Verlag Kurt Schmiersow, Hildesheim.

Tyteca, D., Gathoye, J. L. (1993). On the morphological variability of *Dactylorhiza praetermissa* (Druce) Soo (Orchidaceae). Belgian Journal of Botany, 126: 81-99.

Ungerer, M. C., Baird, S. J. E., Pan, J., Rieseberg L. H. (1998). Rapid Hybrid Speciation in Wild Sunflowers. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95: 11757-11762

Vane-Wright, R. I., Humphries, C. J., Williams, P. H. (1991). What to protect? Systematics and the agony of choice. Biological conservation, 55: 235-254

Vermeulen, P. (1947). Studies in dactylorchids. Schotanus and Jens, Utrecht.

Whitten, W. M., Williams, N. H., Chase, M. W. (2000). Subtribal and generic relationships of Maxillarieae (Orchidaceae) with emphasis on Stanhopeinae: combined molecular evidence. American Journal of Botany, 87: 1842-1856.

Kasutatud veebiaadressid:

<http://herba.msu.ru/shipunov/author/shipunov2005a.pdf> (*Dactylorhiza baltica* Euroopa levikukaart)

<http://www.orhidee.ee/liik.jsp?id=7> (*Dactylorhiza baltica* Eesti levikukaart ja pildid)

<http://www.orhidee.ee/liik.jsp?id=37> (*Dactylorhiza osiliensis* Eesti levikukaart ja pildid)