

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Virginija
TUNAITYENĖ

VIENMETĖS ŠIUŠELĖS
(*ERIGERON ANNUUS* (L.) Pers.)
POPULIACIJŲ GENETINĖ
STRUKTŪRA, ADAPTYVUMAS
IR INVAZYVUMAS

DAKTARO DISERTACIJA

BIOMEDICINOS MOKSLAI, BIOLOGIJA (01 B)

Vilnius, 2016

Disertacija rengta 2011–2015 metais Vilniaus universitete.

Mokslinis vadovas

Prof. Donatas Žvingila

(Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, biologija – 01 B)

Konsultantas

Prof. Jonas Remigijus Naujalis

(Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, botanika – 04 B)

TURINYS

SANTRUMPOS	5
ĮVADAS	6
I. LITERATŪROS APŽVALGA	10
1.1. Europos svetimkraščių augalų rūšių gausumas, kilmė ir taksonominė įvairovė	10
1.2. Hipotezės, kurios aiškina biologines invazijas	11
1.3. Augalų savybės, nulemiančios invazyvumą	13
1.4. <i>Erigeron annuus</i> (L.) Pers. morfologiniai požymiai, biologija, paplitimas	19
1.5. <i>Erigeron annuus</i> genetiniai ypatumai	25
1.6. <i>E. annuus</i> alelopatijos tyrimų apžvalga	30
II. TYRIMŲ MEDŽIAGA IR METODAI	34
1. <i>E. annuus</i> (L.) Pers. populiacijų augalinė medžiaga, kuri buvo naudojama genetinei įvairovei bei alelopatiniam potencialui tirti	34
2. Tyrimų metodikos	37
2.1. Genominės DNR išskyrimas modifikuotu CTAB metodu	37
2.2. DNR koncentracijos ir kokybės nustatymas	39
2.3. ISSR-PGR vykdymas	39
2.4. RAPD-PGR vykdymas	40
2.5. RAPD-PGR ir ISSR-PGR produktų tyrimas agarozės gelyje	40
2.6. Genetinių duomenų analizė	41
2.7. <i>E. annuus</i> skirtingų augaviečių populiacijų augalų alelopatinių savybių įvertinimas	43
2.8. <i>E. annuus</i> adaptacijos mechanizmo tyrimai atliekant bendro sklypo eksperimentus	44
2.9. Morfologinių rodiklių statistinė analizė	44
2.10. Tyrimo vietų dirvožemio cheminė sudėtis	44

III. REZULTATAI	45
3.1. <i>E. annuus</i> invazinių Lietuvos populiacijų genetinės struktūros tyrimas	45
3.1.1. Genetinė įvairovė populiacijų viduje	46
3.1.2. Genetiniai ryšiai tarp populiacijų	50
3.1.3. Genetinės įvairovės pasiskirstymas populiacijose	52
3.2. <i>E. annuus</i> populiacijų genetinės įvairovės gradientas Europos invazinio rūšies arealo dalyje	53
3.3. <i>E. annuus</i> populiacijų, įsikūrusių pusiau natūraliose ir antropogenuotose augavietėse, genetinės ir genotipinės įvairovės bei alelopatinio potencialo palyginimas	57
3.3.1. Genetinės ir genotipinės įvairovės palyginimas	57
3.3.2. Populiacijų genetinės struktūros palyginimas	58
3.3.3. Alelopatinio potencialo įvertinimas	62
3.4. <i>Erigeron annuus</i> populiacijų augaviečių dirvožemio cheminė sudėtis ...	64
3.5. Eksperimentiniame sklype užaugintų <i>E. annuus</i> augalų kai kurių morfologinių požymių analizė	66
3.6. Bendrame sklype užaugintų <i>E. annuus</i> skirtingų šalių populiacijų augalų fenologijos duomenys	70
3.7. <i>E. annuus</i> skirtingų populiacijų augalų, pasodintų bendrame sklype, stiebų augimo dinamika	71
IV. REZULTATŲ APTARIMAS	73
4.1. <i>E. annuus</i> invazinių Lietuvos populiacijų genetinė struktūra	73
4.2. <i>E. annuus</i> populiacijų genetinės įvairovės gradientas	77
4.3. <i>E. annuus</i> populiacijų, įsikūrusių pusiau natūraliose ir antropogenuotose augavietėse, genotipinių rodiklių palyginimas	79
4.4. <i>E. annuus</i> skirtingų šalių populiacijų augalų fenotipinis plastiškumas ir adaptyvumas	84
IŠVADOS	87
MOKSLINIŲ DARBŲ SĄRAŠAS	88
LITERATŪROS SĄRAŠAS	90

SANTRUMPOS

AFLP (angl. *Amplified Fragments Length Polymorphism*) – pagausintų fragmentų ilgio polimorfizmas

AMOVA – molekulinė genetinės įvairovės analizė (angl. *Analysis of Molecular Variance*)

bp – bazių pora

CTAB – cetiltrimetilamonio bromidas

DAISIE (angl. *Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe*) – invazinių Europos augalų tyrimo projektas, kurio pagrindu buvo sukurta to paties pavadinimo Europos invazinių rūšių duomenų bazė

dNTP – deoksiribonukleotidai

EDTA – etilendiaminotetraacto rūgštis

h – Nei (1973) genų įvairovė

I – Shannon informacijos indeksas

IBD (angl. *isolation by distance*) – nuo atstumo tarp populiacijų priklausanti izoliacija

ISSR (angl. *Inter-Simple Sequence Repeat*) – paprastųjų pasikartojančių sekų intarpai

MCMC (angl. *Markov chain Monte Carlo method*) – Markovo grandinės Monte Carlo metodas

PCoA (angl. *Principal Coordinates Analysis*) – principinių koordinačių analizė

PGR – polimerazinė grandininė reakcija

PVP – polivinilpirolidonas

RAPD (angl. *Random Amplified Polymorphic DNA*) – atsitiktinai pagausinta polimorfine DNR

UPGMA (angl. *Unweighted-Pair Group Method with Arithmetic Means*) – porų grupavimo pagal aritmetinius vidurkius metodas

ĮVADAS

Invazinės rūšys vertinamos kaip svarbi globalių pokyčių, vykstančių mūsų planetoje, dalis (Bleeker ir kt., 2007). Europos Parlamento ir Tarybos reglamente (ES) Nr. 1143/2014 nurodoma, jog invazinės rūšys yra svetimos rūšys, kurių introdukcija arba plitimas, kaip nustatyta, kelia grėsmę arba daro neigiamą poveikį biologinei įvairovei ir atitinkamoms ekosistemų funkcijoms. Dėl išaugusios migracijos ir besiplečiančios tarptautinės prekybos biologinės invazijos spartėja ir gausėja visame pasaulyje (Mack, 2000; Ward ir kt., 2008). Pavyzdžiui, Europoje užregistruota daugiau nei 12 tūkst. svetimkraščių augalų rūšių (Hulme ir kt., 2009). Invazijų gausėjimas Europoje vyksta beveik eksponentiškai. Per paskutiniuosius 40 metų jų skaičius padidėjo 76 % (Butchart ir kt., 2010). Invazinių augalų tyrimas aktualus ne tik dėl jų sukeliamų didelių ekologinių, bet ir dėl ekonominių bei sveikatos problemų. Tokių rūšių gausėjimas ir jų nuleiami ekonominiai nuostoliai kelia susirūpinimą visame pasaulyje. Pasaulio mastu biologinių invazijų daroma žala vidutiniškai sudaro apie 300 mlrd. JAV dolerių per metus (Luque ir kt., 2014). Vienas aktualiausių biologinių invazijų tyrimų klausimų, kodėl vienos rūšys tampa invazinėmis, o kitos blogai prisitaiko naujoje aplinkoje ir išnyksta? Kadangi rūšies virtimas invazine yra ilgas procesas, tai mūsų dienomis vykstančių procesų tikrosios pasekmės ir mąstai išryškės tik po keleto dešimtmečių. Catford ir kt. (2009) nurodė, kad iš 29 invazijas aiškinančių hipotezių, 26 yra ekologinės. Vis dėlto aiškėja, kad vien ekologiniai požymiai nepaaiškina, kodėl vienos rūšys tampa invazinėmis, o kitos – ne. Atsižvelgiant į invazijos proceso daugiastadijiškumą, manoma, kad svetimkraštės rūšies virtimas invazine neretai priklauso ir nuo evoliucinių genomo pokyčių, kuriuos ji patiria delsimo fazėje (Clements ir Dittommaso, 2011). Įsikuriant rūšiai naujoje vietoje įvyksta ir genetiniai pokyčiai, kuriuos lemia genų dreifas, mutacijos, hibridizacija su vietinėmis rūšimis ir kt. priežastys (Bossdorf ir kt., 2005; Ainouche ir kt., 2009; Nagy ir Korpelainen, 2015). Šie genetiniai pokyčiai gali nulemti įvairius rūšies biologijos pokyčius, tarp jų – invazyvumo padidėjimą (Ellstrand ir Schierenbeck, 2000; Ellstrand, 2009). Svetimkraščių augalų rūšių inventorizacija rodo, kad Lietuvoje jų yra daugiau nei 500, dažniausiai tai – žoliniai augalai (Gudžinskas, 1994, 1995, 1997). Viena iš šiuo metu sparčiausiai Lietuvoje plintančių svetimkraščių rūšių – vienmetė šiušėlė (*Erigeron annuus*) (L.) Pers. yra šio disertaci-

nio darbo tyrimo objektas. Tai didelio invazyvumo rūšis, kilusi iš Šiaurės Amerikos rytinės pakrantės (Stratton, 1992). XVII amžiuje kaip dekoratyvinis augalas pateko į Europos botanikos sodus (Rothmaler, 1994). Nors vienmetė šiušėlė paplito ir kituose žemynuose, tačiau Europoje ji ypač gausi ir per pastaruosius 30 metų jos plitimas labai spartėja (Frey, 2003). Rūšis triploidinė ($3n = 27$) apomiktinė, retkarčiais dauginasi lytiškai (Edwards ir kt., 2006).

Manoma, kad į Lietuvą vienmetė šiušėlė (dar vadinama šiauriniu šemeniu) pateko iš Vakarų Europos XIX amžiaus pabaigoje kaip dekoratyvus augalas. Jis buvo pradėtas sodinti kapinėse, prie sodybų, vėliau ėmė plisti ir į natūralias ekosistemas. Dažniausiai šios rūšies augalai įsikuria pakelėse, apleistuose laukuose, prie upių, kaip piktžolės plinta miestuose. Nors tyrimų, iliustruojančių *E. annuus* poveikį aplinkai, beveik nėra, nekyla abejonių, jog gebėjimas konkuruoti su vietinėmis rūšimis, toleruoti šienavimą, subrandinti didžiulius sėklų kiekius bei sintetinti alelopatinius junginius gali lemti šios rūšies augalų plitimą (Stratton, 1992; Trtikova, Nazaruk, 2010).

Jau 1951 metais paskelbtame M. Natkevičaitės straipsnyje "Lietuvos TSR adventyvinė flora" pabrėžiama, koks svarbus yra svetimkraščių ("užneštinių") augalų pažinimas. Ir nors invazijų problema Lietuvoje darosi vis aktualesnė ir yra paskelbtas Lietuvos Respublikos Aplinkos ministerijos įsakymas "Dėl introdukcijos, reintrodukcijos ir perkėlimo tvarkos, invazinių rūšių organizmų kontrolės ir naikinimo tvarkos, invazinių rūšių kontrolės tarybos sudėties ir nuostatų, introdukcijos, reintrodukcijos perkėlimo programos patvirtinimo" (Valstybės žinios, 2002-08-20, Nr. 81-3505), tačiau iki šiol invazinių augalų rūšių populiacijų molekulinį genetinį tyrimų palyginti atlikta nedaug (Patamsytė ir kt., 2011; Vyšniauskienė ir kt., 2011; Zybartaite ir kt., 2011; Danusevičius ir kt., 2013; Kupcinskiene ir kt., 2013; Vyšniauskienė ir kt., 2013; Vyšniauskienė ir kt., 2015). Invazinių rūšių populiacijų dinamikos ir vystymosi tendencijų žinojimas yra svarbus norint prognozuoti tokių rūšių poveikį vietinėms ekosistemoms, o taip pat ieškant tinkamiausių jų plitimą kontroliuojančių būdų. Mūsų tyrimams *E. annuus* buvo pasirinkta kaip šiuo metu sparčiai plintanti rūšis, kuri atstovauja invazijomis gausiai *Asteraceae* šeimai ir kuri pasižymi savitomis biologinėmis savybėmis – dideliu fenotipiniu plastiškumu, dominuojančia agamospermija bei retkarčiais vykstančiu lytiniu procesu.

DARBO TIKSLAS

Įvertinti *E. annuus* populiacijų genetinę struktūrą DNR žymenų metodais ir adaptaciją bei invazyvumą naujose augavietėse.

PAGRINDINIAI TYRIMŲ UŽDAVINIAI

1. Ištirti *E. annuus* Lietuvos populiacijų genetinę struktūrą bei genotipinę įvairovę RAPD ir ISSR metodais.
2. Naudojant ISSR metodą nustatyti, ar skiriasi kai kuriose Europos šalyse skirtingu laiku įsikūrusių *E. annuus* populiacijų genetinė įvairovė.
3. Palyginti *E. annuus* populiacijų, įsikūrusių skirtingose augavietėse (antropogenuose ir pusiau natūraliose), alelopatinį potencialą bei genetinę diferenciaciją.
4. Naudojant bendro sklypo metodą, nustatyti, ar lokali adaptacija, ar fenotipinis plastiškumas lemia tam tikrus morfologinius ir fenologinius *E. annuus* populiacijų skirtumus.

DARBO NAUJUMAS

Pirmą kartą atlikti vienmetės šiušelės Lietuvos populiacijų genetinės struktūros tyrimai, nustatyta genetinė ir genotipinė įvairovė. Šie tyrimai atlikti naudojant dviejų tipų DNR žymenis (RAPD ir ISSR). Atlikus kai kurių Europos šalių *E. annuus* populiacijų molekulinis genetinis tyrimus, nustatytas genetinės įvairovės gradientas invazinio arealo dalyje, į kurią įeina ir Lietuva. *E. annuus* populiacijų iš antropogenuose ir pusiau natūralių augaviečių genetinės įvairovės palyginimas parodė šių dviejų populiacijų grupių genetinę diferenciaciją, kuri gali būti susijusi su ekotipų formavimusi skirtingose invazijos proceso stadijose. Pirmąkart įvertintas *E. annuus* invazinių populiacijų iš skirtingų augaviečių alelopatinis potencialas ir nustatyta, kad jis skiriasi priklausomai nuo augavietės. Naudojant bendro sklypo metodą geografiniu požiūriu skirtingos kilmės populiacijų morfometriniams ir fenologiniams tyrimams atlikti parodyta, kad nepaisant rūsiai būdingo didelio fenotipinio plastiškumo, kai kurioms populiacijoms būdingi ir lokalsios adaptacijos požymiai. Šie požymiai gali būti svarbūs rūsies invazyvumui.

GYNIMUI PRISTATOMI TEIGINIAI

1. *Erigeron annuus* populiacijoms Lietuvoje būdinga didelė genetinė diferenciacija, kurią galėjo nulemti pradininko efektas.

2. *E. annuus* Lietuvos populacijose vyrauja genotipai, kurie dauginasi nelytiniu būdu.
3. *E. annuus* populacijoms plintant šiaurės kryptimi mažėja molekulinė genetinė įvairovė.
4. Antropogenizuotų ir pusiau natūralių augaviečių *E. annuus* populacijoms būdinga genetinė diferenciacija ir alelopatinių savybių skirtumai.
5. Nors *E. annuus* pasižymi dideliu fenotipiniu plastiškumu, leidžiančiu rūšiai prisitaikyti prie naujų sąlygų, tačiau kai kurioms populacijoms būdinga ir galimai genetiškai sąlygojama lokali adaptacija.

DARBO APROBAVIMAS

Disertacijos tema paskelbtas straipsnis ISI Web of Science referuojamame žurnale, turinčiame citavimo indeksą. Vienas straipsnis paskelbtas žurnale, įtrauktame į Thomson Reuters Master Journal List sąrašą. Du straipsniai paskelbti recenzuojamame užsienio periodiniame leidinyje. Tyrimų rezultatai pristatyti 5-iose tarptautinėse ir 2-ojose vietinėse konferencijose. Taip pat buvo skaitytas pranešimas Lietuvos mokslų akademijos organizuotoje konferencijoje „Jaunųjų mokslininkų konferencija BIOATEITIS – gamtos ir gyvybės mokslų perspektyvos“.

I. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Europos svetimkraščių augalų rūšių gausumas, kilmė ir taksonominė įvairovė

Biologinės invazijos vertinamos kaip žmogaus sukeltų globalių aplinkos pokyčių dalis. Daugybė rūšių, atvežtų į Europą mažiau nei prieš 200 metų, sėkmingai įsitvirtino ir vis labiau plinta (Pyšek ir Hulme, 2005; Hulme, 2007). Informacija apie Europos svetimkraščius augalus yra nepilna. Nors ir atlikta dalies svetimkraščių augalų rūšių Europoje inventorizacija (Moravcová ir kt., 2006; Perglová ir kt., 2006), tačiau iki DAISIE (angl. *Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe*) projekto atliktos Europos svetimkraščių rūšių inventorizacijos tik keletojė valstybių, pavyzdžiui Austrijoje (Essl ir Rabitsch, 2002), Čekijos Respublikoje (Pyšek ir kt., 2002), Vokietijoje (Kühn ir Klotz, 2003), Airijoje (Reynolds, 2002) ir Jungtinėje Karalystėje (Clement ir Foster, 1994) buvo sudaryti specializuoti svetimkraščių rūšių sąrašai. 2008 metais buvo paskelbti DAISIE projekto (2004-2008) rezultatai, ir pateikta pirmoji, apibendrinta Europos svetimkraščių rūšių analizė. Europos svetimkraštės augalų rūšys, atsižvelgiant į jų paplitimą, buvo suskirstytos į natūralizavusias, atsitiktines ir kriptogenines.

2008 metais DAISIE duomenų bazėje buvo iš viso 5789 svetimkraštės augalų rūšys (tarp jų ir tos, kurios vienoje Europos dalyje vietinės, kitoje – svetimkraštės), iš kurių 2843 yra kilusios ne iš Europos. 3749 rūšys yra natūralizavusios Europoje, 1507 – sutinkamos atsitiktinai ir gamtinėse ekosistemose nesidaugina, 29 – kriptogeninės, o 504 rūšims natūralizacijos statusas nesuteiktas. Šie skaičiai rodo svetimkraščių rūšių pagausėjimą, palyginti su jų skaičiumi (1568), pateiktu ankstesnėse *Flora Europea* (1964-1980) apžvalgose. Didžiausias svetimkraščių rūšių skaičius, nepaisant jų statuso, nustatytas Belgijoje (1969) ir Jungtinėje Karalystėje (1779) (Lambdon ir kt., 2008).

Remiantis 2008 metais pateiktais DAISIE duomenų bazės duomenimis, Lietuvoje buvo iš viso 827 svetimkraščių augalų rūšys, iš kurių 258 – natūralizavusios, 256 – atsitiktinės, o 313 – nepriskirtos nė vienai svetimkraščių rūšių kategorijai (Lambdon ir kt., 2008).

Didžioji dalis Europos svetimkraščių augalų rūšių yra europinės kilmės, tai yra vietinės vienuose regionuose, svetimkraštės – kituose. 45,8 % Europos svetimkraščių

augalų rūšių (ne europinės kilmės) kilusios iš Šiaurės ir Pietų Amerikos, 45,9 % – iš Azijos, 20,7 % – iš Afrikos ir 5,3 % – iš Australijos. Remiantis rūšių sudėtimi, Europos svetimkraščių augalų flora skirstoma į penkias dideles grupes:

1. Šiaurės vakarinę, apimančią Skandinaviją ir Jungtinę Karalystę.
2. Vakarų centrinę, besitęsiančią nuo Belgijos ir Nyderlandų iki Vokietijos ir Šveicarijos.
3. Baltijos, apimančią Baltijos šalis.
4. Rytų centrinę, sudarytą iš likusios centrinės ir rytų Europos dalies.
5. Pietų, apimančią didžiulį Viduržemio jūros regioną.

Inventorizuotos Europos svetimkraštės augalų rūšys priklauso 213 šeimų ir 1567 gentims. Daugiausia rūšių priklauso *Asteraceae*, *Poaceae*, *Rosaceae*, *Fabaceae* ir *Brassicaceae* šeimoms (Lambdon ir kt., 2008).

1.2. Hipotezės, kurios aiškina biologines invazijas

Didėjant invazinių rūšių skaičiui, hipotezių, bandančių paaiškinti biologinę invaziją ir numatyti jos mastus, skaičius taip pat didėjo (Catford ir kt., 2009). Catford ir kt. (2009) nurodė, kad iš 29-ių, invazijas aiškinančių hipotezių, 26-ios yra ekologinės. Literatūros analizė rodo, kad pačios populiariausios invazijas aiškinančios hipotezės yra šios: biotinio atsparumo, neįprastų kovos priemonių, priešų nebuvimo, „dešimties“ taisyklė ir evoliucinių genominių pokyčių.

1958 metais išleista Čarlio Eltono knyga „Augalų ir gyvūnų invazijų ekologija“ laikoma šiuolaikinės invazijų ekologijos pradžia. Ši knyga yra dažniausiai cituojamas veikalas aprašant invazijų ekologiją. Jau šioje knygoje aprašoma keletas biologines invazijas aiškinančių šiandieninių ekologinių hipotezių, pavyzdžiui, biotinio atsparumo hipotezė (Richardson ir Pyšek, 2006). Ši hipotezė teigia, kad ekosistemos, kuriose yra didelė rūšių įvairovė yra atsparesnės invazijoms palyginti su ekosistemomis, kuriose maža biologinė įvairovė (Elton, 1958). Besiskverbdamos į bendrijas, kuriose didelė rūšių įvairovė, svetimkraštės rūšys dažnai patiria nesėkmę, nes stiprūs vietinių rūšių tarpusavio ryšiai trukdo ateivių įsitvirtinimui ir plitimui. Regionai, kuriuose yra didelė biologinė įvairovė ir kuriuos mažai trikdo žmonių veikla, yra atsparesni nevietinių rūšių įsitvirtinimui. Tai galima paaiškinti tuo, kad ekosistemoje, kurioje mažesnė įvairovė arba ji labiau sutrikdyta, yra daugiau laisvų nišų, kuriose gali įsikurti nevietinės rūšys. Daugiausia invazinių augalų rūšių yra dirbamuose laukuose,

miesto vietovėse, šiukšlynuose. Šioms augavietėms kontrastuoja plačialapiai ir mišrūs miškai, natūralios pievos, durpynai, kur invazinių rūšių randama nedaug. Augaviečių sutrikdymas padidina augalų invazijų mastą, nes dėl jo prarandamos vietinės rūšys, kurios gali varžytis su introdukuotomis nevietinėmis rūšimis. Be to sumažėjęs vietinių rūšių skaičius padidina maisto medžiagų prieinamumą. Atlikta daug tyrimų, kurie parodė, kad bendrijose, kuriose auga daug rūšių, yra mažiau invazinių rūšių (Rejmanek, 1989; Lonsdale, 1999; Levine, 2000; Mack ir kt., 2000; Maron ir Vila, 2001; Dukes, 2002; Shea ir Chesson, 2002; Fridley ir kt., 2007; Jeschke ir Genovesi, 2011).

Neįprastų kovos priemonių naudojimo hipotezė yra labai dažnai aptariama ir plačiai taikoma sėkmingoms invazijoms paaiškinti. Pasak šios hipotezės, invazinės rūšys gali turėti konkurencinį pranašumą kovoje su vietinėmis rūšimis, nes naudoja neįprastas kovos priemones (Callaway ir Aschehoug, 2000; Callaway ir Ridenour, 2004). Vienas iš geriausiai žinomų tokių neįprastų ginklų yra cheminiai junginiai, pasižymintys alelopatiniu poveikiu.

Priešų nebuvimo hipotezė – taip pat labai populiari hipotezė, kuri invazijos sėkmę aiškina priešų neturėjimu naujoje vietoje. Šią hipotezę taip pat patvirtino daugelio mokslinių tyrimų rezultatai (Maron ir Vila, 2001; Keane ir Crawley, 2002; Mitchell ir Power, 2003; Torchin ir kt., 2003; Colautti ir kt., 2004; Heger ir Jeschke, 2014).

Siekiant paaiškinti ir numatyti invazijos mastą, buvo pasiūlyta vadinamoji „dešimties“ taisyklė. Remiantis šia taisykle teigiama, kad 10 % rūšių iš visų introdukuotų, t. y. perkeltų už natūralaus paplitimo ribų rūšių, išplinta naujoje vietoje, apie 10 % šių rūšių įsitvirtina gamtinėse ekosistemose ir apie 10 % įsitvirtinusių rūšių tampa invazinėmis (Williamson ir Brown, 1986; Jeschke ir Strayer, 2005; Jeschke, 2008).

Sėkminga rūšių invazija dažnai priklauso ir nuo greitų evoliucinių genetinių pokyčių, kuriuos gali sukelti genų dreifas, poliploidizacija, vidurūšinė ar tarprūšinė hibridizacija, inbrydingas ir kiti veiksniai (Bossdorf ir kt., 2005)

Jeschke ir kt. (2012) taip pat analizavo pagrindines invazijos hipotezes. Šie autoriai akcentuoja, kad šių hipotezių patvirtinimas empiriniais tyrimais yra nevienodas. Patikimiausiomis, empiriniais tyrimais patvirtintomis, iš aukščiau aprašytų hipotezių laikomos neįprastų kovos būdų ir priešų nebuvimo hipotezės, mažiausia patikima – „dešimties“ taisyklė. Taip pat nurodoma, jog laikui bėgant kai kurių hipotezių reikšmingumas mažėjo. Biologines invazijas aiškinančių hipotezių patiki-

mumo skirtumai išryškėjo ir jas taikant atskirų taksonominių grupių invazijoms aiškinti. Pavyzdžiui, empiriškai įrodyta, kad „dešimties“ taisyklės hipotezė patikimesnė aiškinant augalų ir bestuburių invazijas palyginti su stuburinių, o biotinio atsparumo ir priešų nebuvimo hipotezės vienodai statistiškai patikimos jas taikant įvairioms taksonominėms grupėms. Neįprastų kovos būdų panaudojimo ir priešų nebuvimo hipotezių reikšmė invazyvumui paaiškinti buvo empiriškai patikrinta tik su sausumos augalais.

1.3. Augalų savybės, nulemiančios invazyvumą

1965 metais H. Beikeris (Baker, 1965) paskelbė 14 „idealios piktžolės“ savybių. Nors tuo metu Beikerio pasiūlytas piktžolės apibrėžimas apėmė augalus, augančius žmogaus sutrikdytose augavietėse, daugelis jo tirtų piktžolių buvo invaziniai augalai. Taigi, galima teigti, jog savybių, nulemiančių invazijos sėkmę, paieška prasidėjo prieš 50 metų. H. Beikeris savo darbe nurodė šias augalo savybes:

1. Sėklų sudygimui nereikia specialių sąlygų.
2. Sėklos pasižymi dideliu gyvybingumu.
3. Daigai auga labai greitai.
4. Vegetatyvinė fazė prieš žydėjimą trunka neilgai.
5. Ilgą laiką subrandina pastovų sėklų kiekį.
6. Ne obligatiniai savidulkiai arba apomiktai.
7. Juos apdulkina nespecifiniai apdulkintojai arba vėjas.
8. Palankiomis sąlygomis subrandina daug sėklų.
9. Nepalankiomis sąlygomis geba produkuoti nors ir nedidelį kiekį sėklų.
10. Turi įvairių prisitaikymų platinimui.
11. Jei daugiametis, intensyviai dauginasi vegetatyviniu būdu.
12. Jei daugiametis, turi rizomus.
13. Jei daugiametis, geba regeneruoti iš šakniastiebio dalių.
14. Konkuruodamas su kitais augalais, išskiria tam tikras chemines medžiagas.

Rejmanek (2005) apibendrina ir pateikė šiuos invazijos proceso dėsningumus:

1. Sugebėjimas palaikyti individų ar populiacijų santykinai pastovų gyvybingumą/prisitaikomumą įvairiose aplinkos sąlygose. Tam apibrėžti kartais vartojamas terminas „gyvybingumo/prisitaikomumo homeostazė“.

2. Mažas genomo dydis gali būti pagrindinis veiksnys, lemiantis augalų invazyvumą pažeistose augavietėse. Jis dažnai siejamas su minimaliai trumpu generacijos laiku, mažomis sėklomis, gerais daigų augimo rodikliais.
3. Sumedėjusių augalų rūšių invazyvumas pažeistose augavietėse siejamas su maža sėklų mase (<50mg), trumpu juveniliniu periodu (<10 metų) ir trumpais laiko tarpais (1-4 metai) tarp didelių kiekių sėklų susidarymo. Šios trys savybės tiesiogiai ar netiesiogiai prisideda prie kitų, populiacijų plėtimąsi lemiančių, veiksnių: dauginimosi greičio, vidutinio dauginimosi amžiaus ir plitimo tankumo. Ilgas vaisių subrandinimo periodas taip pat siejamas su invazyvumu.
4. Kuo didesnėje natūralaus arealo teritorijoje paplitusi rūšis, tuo didesnė tikimybė, kad tokia rūšis taps invazine. Tai siejama su įvairesnės aplinkos toleravimu. Vegetatyvinis dauginimasis gali būti svarbus invazyvumo veiksnys. Tai ypač yra būdinga vandens ekosistemų augalams.
5. Nepriklausomos nuo specifinio mutualizmo (šaknų simbiotų, apdulkintojų, sėklų platintojų) augalų rūšys gali įveikti daugiau abiotinių ir biotinių barjerų naujoje aplinkoje.
6. Nepažeistose (natūraliose ar pusiau natūraliose) augalų bendrijose, kuriose netrūksta vandens ir maisto medžiagų, dažniausiai įsikuria rūšys, kurioms atstovauja aukšti augalai. Beje, tai labiau būdinga žolinių augalų bendrijoms. Nepažeistose augalų bendrijose, kuriose trūksta drėgmės, dažniausiai įsikuria rūšys, kurių augalai greitai užaugina gilią šaknų sistemą.
7. Kai kurių invazinių rūšių plitimas labai priklauso nuo antropogeninių veiksnių.
8. Įvairūs genetiniai pokyčiai ir daugeliui invazinių rūšių būdingas fenotipinis plastiškumas gali palengvinti invazijas.

Tarp invazyvumą nulemiančių veiksnių nurodomos ir tam tikros augalų savybės, kurios susiję su dauginimusi ir sėklų platinimu. Nustatyta, kad savidulka yra sėkminga dauginimosi strategija, nepaisant to, kad ne visi lytiniu būdu besidauginantys invaziniai augalai yra savidulkiai. Pannel ir Barrett (1998) nurodė, kad idealus invazinis augalas prisitaikydamas prie vietos sąlygų galėtų keisti apsidulkinimo būdus. Anks tyvosiose invazijos stadijose, kai populiacijos yra mažos, augalai turėtų apsidulkinti patys. Vėliau, kai populiacijos yra didelės ir apdulkintojų netrūksta, kryžminis apdulkinimas naudingesnis, nes nulemia didesnę genetinę polimorfizmą. Tiriant daugelio augalų invazijas nustatyta, kad stuburinių gyvūnų vykdomas sėklų platinimas

– lemiamas invazijos veiksnys (Rejmanek, 1996; Richardson ir kt., 2000). Netgi kai kuriuos didžiules sėklas turinčius augalus, pavyzdžiui, *Magnifera indica*, gali platinti stambieji žinduoliai. Natūralizavusiųjų augalų, kuriuos platina stuburiniai, nuošimtis gana didelis. Australijoje jis sudaro daugiau nei 50 % (Specht ir Specht, 1999).

Nustatyta, kad augalai, kurie pasižymi didesniu konkurencingumu dėl maisto medžiagų, sėkmingiau užima natūralias ir pusiau natūralias ekosistemas (Shea ir Chesson, 2002). Rūšiai tapti invazine padeda ir augalų ypatumai, dėl kurių žmonės pasyviai gali juos platinti.

Daug ekologų teigia, kad didelis augalų augimo greitis galėtų būti svarbus rūšies invazyvumo veiksnys pažeistose ar atvirose vietose, ypač aplinkoje, kurioje gausu maisto medžiagų. Tačiau tai įrodė tik keleto eksperimentų rezultatai (Pattison ir kt., 1998; Grotkopp ir kt., 2002).

Invazija yra procesas, kuris susideda iš keleto stadijų. Kathleen ir kolegos (2007) nagrinėjo, kokie požymiai garantuoja sėkmingą invaziją keturiose pagrindinėse jos stadijose: transportavimo, kolonizacijos, įsitvirtinimo, plitimo. Reprodukcinės medžiagos gausa, vadinamasis „spaudimas“ (angl. *propagule pressure, introduction effort*), padidina tikimybę jai išlikti transportavimo metu (Kolar ir Lodge, 2001; Lockwood ir kt., 2005). Šis veiksnys priklauso nuo to, koks kiekis ir kiek kartų įvežama šios medžiagos. Kitas svarbus invazijų plitimui veiksnys – rūšies naudingumas. Rūšys, kurios pasižymi naudingomis savybėmis, introdukuojamos pakartotinai ir tai padidina invazijos sėkmę. Augalų įvežimas ypač paspartėjo įkūrus Europos kolonijas kituose žemynuose bei suintensyvėjus prekybai tarp Naujojo pasaulio ir Europos (Mack ir Lonsdale, 2001; Le Maitre ir kt., 2004). Augalai tikslingai buvo pervežami maistui, kurui, pašarams, medicininiams tikslais. DAISIE DB duomenimis tikslingai įvežtų rūšių Europoje daugiau nei patekusių atsitiktinai. 52,2 % rūšių buvo atvežtos kaip dekoratyviniai ir sodo augalai (Lambdon ir kt., 2008). Atlikę natūralizuotų augalų rūšių analizę 843-juose pasaulio regionuose, apimančiuose apie 83 % žemės sausumos teritorijos, van Kleunen ir kt. (2015) nustatė, kad dėl žmogaus veiklos išplito 13168 rūšys (apie 3,9 % induočių augalų).

Rūšys, kurios atvežamos tikslingai, turi pranašumų palyginti su atsitiktinai patekusiomis, nes yra prižiūrimos ir mažiau kenčia nuo nepalankių aplinkos sąlygų ar mažo populiacijos dydžio sukeltamų pasekmių (Mack, 2000). Prieš atsivežant naudingus augalus, domimasi palankiomis augalui augti sąlygomis. Žmonių prižiūrimi

augalai suformuoja stabilias populiacijas, kurios gali pasklisti už dirbtinių ekosistemų ribų.

Rūšys, kurios išlieka transportavimo metu ir patenka į naują teritoriją, joje įsikuria ne visada. Išlikimas priklauso nuo aplinkos sąlygų (dirvožemio tipo, klimato) ir nuo biotinių procesų, kurie vyksta ekosistemoje. Kolonizacijos sėkmė labai priklauso ir nuo reprodukcinės medžiagos kiekio (Williamson, 1999; Richardson, 1999; Rejmanek, 2000; Williams ir kt., 2002; Foxcroft ir kt., 2004; Lockwood ir kt., 2005; Colautti ir kt., 2006). Labai nedidelio reprodukcinės medžiagos kiekio pakanka kolonizuoti teritorijas, kuriose dėl augaviečių pažeidimo eliminuoti vietiniai konkurentai. Įsitvirtinimui vietose, kuriose intensyvi konkurencija ir atšiaurios abiotinės sąlygos, reikalingas didelis reprodukcinės medžiagos kiekis (Foster ir kt., 2004; Lockwood ir kt., 2005). Pastarąjį rodiklį labai veikia ir bendrijos ekologinis rezistentiškumas. Tai išsamiai tyrinėjo D'Antonio su bendradarbiais (2001). Kai rezistentiškumas yra mažas, pakanka nedidelio reprodukcinės medžiagos kiekio atėjūnui įsitvirtinti bendrijoje ir invazijos greitis tokiu atveju bus didelis. Dideliam rezistentiškumui įveikti reikalingas didelis atėjūno reprodukcinės medžiagos kiekis.

Įrodyta, kad padidėjusi genetinė įvairovė ir fenotipinis plastiškumas padidina invazijos šansus (Colautti ir kt., 2006; Simberloff, 2009; Rius ir Darling, 2014; Kupcinskiene ir kt., 2015). Genetinė įvairovė gali padidinti tikimybę sėkmingai įsitvirtinti dėl daugelio priežasčių: galimybės įsikurti naujose nišose, padidėjusio atsparumo patogenams ir aplinkos sukeliama stresui, išaugusio konkurencingumo (Dlugosch ir Parker 2008; Prentis ir kt., 2008). Dlugosch ir Parker (2008) nustatė, kad genetinės įvairovės sumažėjimas yra dažnas introdukcijos požymis ir kad daugkartinė introdukcija gelbsti nuo genetinės įvairovės praradimo. Prentis ir kt. (2008) teigia, jog nemažai invazinių augalų rūšių pasižymi sparčia adaptacija. Autoriai mano, kad adaptacija prie naujų aplinkos sąlygų gali įvykti per 20 kartų ir tai lemia evoliuciniai genetiniai pokyčiai. Vienas iš tokių pokyčių – tarprūšinė ir vidurūšinė hibridizacija.

Hibridizacija yra svarbus invazinių rūšių evoliucijos mechanizmas ir gali paskatinti ar net nulemti invazijos procesą (Ellstrand ir Schierenbeck, 2000; Vila ir kt., 2000; Daehler ir Carino, 2001). Ji gali padidinti prisitaikomumą padidindama genetinę įvairovę ir paskatindama palankių genų derinių atsiradimą (Anderson, 1948; Prentis ir kt., 2008). Hibridų fenotipinis kintamumas didesnis palyginti su tėvų (Rieseberg ir kt., 2003). Anderson ir Stebbins (1954) pastebėjo, kad hibridizacija tarp po-

puliacijų, turinčių skirtingas genetines adaptacijos sistemas, gali prisidėti prie naujų adaptyvių sistemų, tinkamų naujai ekologinei nišai užimti, atsiradimo. Ellstrand ir Schierenbeck (2000) aprašo 28 atvejus, kai hibridizacija įvyko anksčiau nei invazija. Beveik visi šie teiginiai taikomi žoliniams augalams, kurių didžioji dalis – daugiamečiai augalai. Šie autoriai taip pat pateikia hipotezes, kurios aiškina, kaip hibridizacija gali paskatinti invazyvumo evoliuciją. Pirmoji hipotezė – naujų genotipų susiformavimo. Ji plačiausiai paplito apibūdinant hibridizacijos vaidmenį adaptyvioje evoliucijoje (Stebbins, 1974). Pavyzdžiui, *Viola riviniana* ir *V. reichenbachiana* hibridinė linija sėkmingai kolonizavo kai kuriuos Centrinės Vokietijos pušynus, veikiamus teršalų (Neuffer ir kt., 1999). Kitas pavyzdys – *Rhododendron ponticum* ekotipas Didžiojoje Britanijoje. Jis kolonizuoja šaltesnes vietas negu savo natyvaus paplitimo ribose. Platesnė ekologinė tolerancija siejama su Didžiojoje Britanijoje įvykusia šios rūšies hibridizacija su šalčiui tolerantiška rūšimi *R. catawbiense*, kilusia iš Šiaurės Amerikos (Milne ir Abbott, 2000). *Spartina anglica* aloploidas, kilęs iš *S. maritima* ir *S. alterniflora*, tapo dominuojančia pelkių rūšimi kai kuriose Europos šalyse. Ji sparčiai plinta Kinijoje, Naujojoje Zelandijoje, Australijoje, nes sudarydama plačią ir tankią velėną, išstumia kitas rūšis. Priešingai, šios rūšies pirmtakai paplitę labai ribotai. Antroji hipotezė – genetinės įvairovės padidėjimas hibridinėse linijose atsakingas už evoliucinę tų linijų sėkmę (Stebbins, 1969). Trečioji hipotezė siejama su fiksuota heteroze. Galėtų būti, jog dėl fiksuotos heterozės padidėjęs prisitaikumas yra tai, kas būtina hibridinei linijai tapti invazine. Paskutinė hipotezė padidėjusį hibridų invazyvumą susieja su žalingų mutacijų atsikratymu. Žalingų mutacijų gali susikaupti izoliuotose mažose populiacijose. Hibridizacija tarp tokių populiacijų gali padėti sumažinti jų skaičių ir taip sudaryti sąlygas sparčiam plitimui.

Be hibridizacijos, svarbus vaidmuo invazyvumo evoliucijoje tenka poliploidijai. Poliploidija – dažnas reiškinys gaubtasėklių evoliucijoje (Wood ir kt., 2009). Yra žinoma keletas neseniai kilusių invazinių poliploidų (Ainouche ir kt., 2009; Schierenbeck ir Ellstrand 2009; Pandit ir kt., 2011). Poliploidija siejama su daugybe priva-lumų, kurie gali skatinti invaziją, įskaitant rūšių išankstinę adaptaciją prie aplinkos sąlygų naujose paplitimo vietose, žalingų alelių maskavimą (Otto ir Whitton, 2000; Otto, 2007), vaisingumo atstatymą per chromosomų padvigubėjimą (Ainouche ir kt., 2009), per pokyčius dauginimosi sistemoje (Robertson ir kt., 2011). Vienas iš geriausiai poliploidijos svarbą sėkmingoje invazijoje iliustruojančių pavyzdžių yra

tetraploidas *Centaurea stoebe*. Ir diploidai, ir tetraploidai buvo introdukuoti į Jungtines Amerikos Valstijas iš Europos, tačiau invazinėse populiacijose dominuoja tetraploidai (Treier ir kt., 2009). Kitas klasikinis pavyzdys – jau minėta *Spartina anglica*. Ši rūšis yra neseniai suformavęs alopoliploidas, kuris pasižymi dideliu invazyvumu palyginti su tėvinėmis rūšimis, geba kolonizuoti įvairesnes augavietes ir pasižymi dideliu fenotipiniu plastiškumu (Ainouche ir kt., 2009). Poliploidams būdinga daugelis savybių, kurios leidžia jiems palaikyti aukštesnę genetinę įvairovės lygį palyginus su diploidais, dėl to išvengia sunkumų, su kuriais susiduria populiacijos išsikūrimo stadijoje (Levin, 2002).

Taip pat reikia paminėti, kad dažnai tarp įsitvirtinimo ir plitimo stadijų būna vadinamoji delsimo (Lag) stadija, kurios metu mažos svetimkraščių rūšių populiacijos prisitaiko prie naujų sąlygų (Ewel ir kt., 1999). Vykstančios daugkartinės introdukcijos į nevietinių rūšių plitimo ir migracijos sritis, genų srautas tarp įsitvirtinančių nevietinių rūšių populiacijų gali sutrumpinti laiką, praleistą delsimo fazėje (Sakai ir kt., 2001; Lavergne ir Molofsky, 2007). Pavyzdžiui, Kowarik (1995) apžvelgė 184 invazines medžių rūšis, kurių kultivavimo pradžios data žinoma Vokietijos Brandeburgo žemėje. Vidutinis invazijos atidėjimas buvo 131 metai krūmams, 170 metai – medžiams. Žolinių augalų grupėje delsimo fazė užtrunka keletą dešimtmečių (Pyšek ir Prach, 1999). Jei tos rūšys būtų iš anksto adaptavęsi invazijai, tikėtina, kad ji turėtų pasireikšti greičiau. Dietz ir Edwards (2006), apibendrinami daugelio invazinių rūšių tyrimus, pasiūlė spartaus plitimo (invazijos) stadijoje išskirti pirminės ir antrinės invazijos fazes, kurios susiję su svetimkraštės rūšies perėjimu iš pažeistų antropogenizuotų augaviečių į pusiau natūralias arba natūralias. Taigi, pirminėje invazijos fazėje rūšis plinta žmogaus pažeistose ir lengvai prieinamose augavietėse, o antroji invazijos fazė prasideda tik tada, kai rūšis turi arba įgyja pakankamą genetinį potencialą plisti į pusiau natūralias arba klimatinio požiūriu sunkiau prieinamas augavietes.

Neabejotina, kad fenotipinis plastiškumas yra svarbus daugeliui invazinių rūšių iš įvairių taksonominių grupių sėkmingai įsitvirtinant skirtingose augavietėse. Tai įrodo šie pavyzdžiai: *Alliaria petiolata* Naujajame Džersyje (Byers ir Quinn, 1998), *Bunias orientalis* Vokietijoje (Dietz ir kt., 1999), *Pennisetum setaceum* Havajuose (Williams ir kt., 1995), *Verbascum thapsus* Kalifornijoje (Parker ir kt., 2003), *Impatiens*

glandulifera Centrinėje Europoje (Pahl ir kt., 2013). Daehler (2003) apžvelgė daugelio autorių tyrimus ir parodė, kad invazinės rūšys pasižymi didesniu fenotipiniu plastiškumu palyginti su vietinėmis rūšimis.

Svetimkraščių rūšių įsitvirtinimą veikia žolėdžiai, parazitai, patogenai, mutualistinė dirvos biota, apdulkintojai, platintojai. Žolėdžių ir ligų sukėlėjų nebuvimas gali padidinti augimo rodiklius ir tikimybę įsitvirtinti naujame regione. Augalo ir dirvos tarpusavio grįžtamieji ryšiai gali stipriai keisti bendrijų produktyvumą ir įvairovę bei gali turėti įtakos svetimkraščių rūšių invazijai. Šie ryšiai gali būti teigiami ir neigiami. Neigiami, kai dirvos parazitai ir patogenai mažina augalų augimą, veikia tankumą. Teigiami grįžtamieji ryšiai susiję su mikorizininiais grybais, azotą fiksuojančiomis bakterijomis ir kita palankia dirvos biota. Nevietinės rūšys gali tiesiogiai veikti dirvos biotos struktūrą ir funkcijas (Wolfe ir Klironomos, 2005). Tam tikrais atvejais nevietinės rūšys suformuoja mutualistinius ryšius, padidinančius invazijos ir įsitvirtinimo galimybę ir keičiančius dirvos maisto medžiagų įsisavinimą (Richardson ir kt., 2000; Callaway ir kt., 2004). Pavyzdžiui, daug nevietinių rūšių didina azoto kiekį dirvoje, suformuodamos asociacijas su vietinėmis azotą fiksuojančiomis bakterijomis (Richardson ir kt., 2000; Callaway ir kt., 2004). Azoto kiekio padidėjimas dirvoje gali keisti vietinių bendrijų struktūrą ir padidinti tolimesnių invazijų sėkmę.

Tam, kad nevietinės rūšys įsitvirtintų naujoje teritorijoje, yra būtini ryšiai su apdulkintojais ir sėklų platintojais (Richardson ir kt., 2000). Maža tikimybė, kad augalai, kurie turi mažai apdulkintojų ir platintojų, ras kuo juos pakeisti introdukcijos vietoje. Augalai, kuriuos apdulkina universalūs apdulkintojai, dauginasi vegetatyviu būdu ar yra savidulkiai, turi ryškių privalumų (Richardson ir kt., 2000). Tarp vietinių ir nevietinių rūšių gali vykti konkurencija ne tik dėl maisto medžiagų, bet ir dėl apdulkinimo (Brown ir Mitchell, 2001).

1.4. *Erigeron annuus* (L.) Pers. morfologiniai požymiai, biologija, paplitimas

Remiantis ITIS (angl. *Interagency Taxonomic Information System*) duomenimis (2010-05-13 duomenų versija), *Erigeron annuus* (L.) Pers. priklauso astrinių (*Asteraceae*) šeimai šiušelės (*Erigeron* L.) genčiai, kurioje pagal Nesom duomenis yra apie 400 rūšių (Nesom, 2000). *Erigeron* L. genties augalų įvairovės centras yra Šiaurės

Amerika. Gentis sudaryta iš keleto sekcijų, vienos jų – gana didelės, kitos – sudarytos iš keleto rūšių. Šios genties daugumos augalų rūšių bazinis chromosomų skaičius – $x = 9$ (Nesom, 1994). Tačiau egzistuoja įvairūs ploidiskumo lygiai: $2n = 2x = 18$, $2n = 3x = 27$, $2n = 4x = 36$, o taip pat pasitaiko ir aneuploidų. *Phalacroloma* sekcija sudaryta iš 2-jų rūšių, viena jų – apomiktinė, triploidinė *Erigeron annuus*, kita – lytiškai besidauginanti, dažniausiai diploidinė – *E. strigosus* (Nesom, 1989; Frey, 2003; Frey ir kt., 2003). Abi rūšys savaime auga Amerikoje, bet introdukuotos daugelyje pasaulio šalių (Halliday, 1976; Holm ir kt., 1979). Vis dėlto išsamūs citologiniai ir morfometrinių tyrimai rodo, kad *E. strigosus* nėra Europoje, bet sutinkamas morfologiškai panašus *E. annuus* morfotipas, *E. annuus* var. *septentrionalis* (Frey ir kt., 2003). Lietuvos TSR floros (1980) duomenimis *Erigeron* genties augalai – vienmetės, dvimetės arba daugiametės žolės, kurių graižai vidutinio didumo arba smulkūs, susitelkę į kekės arba šluotelės pavidalo žiedyną, retai pavieniai. Kraštiniai žiedai liežuviški, piesteliniai, išsidėstę viena arba keliomis eilėmis, balti, rožiniai, violetiniai, tokio pat ilgio kaip skraistė arba ilgesni už ją. Viduriniai žiedai vamzdiški, dvilyčiai. Vaisiai plokšti, atvirksčiai kiaušiniški, plaukuoti, rečiau pliki. Lietuvoje yra dvi *Erigeron* genties rūšys: *E. acer* L. ir *E. annuus* (L.) Pers. Pastarosios rūšies augalai palyginti su *E. acer* yra aukštesni, stambesniais graižais, liežuviški žiedai beveik dvigubai ilgesni už vamzdiškus.

Lietuvoje vienmetė šiušėlė (1 pav.) žinoma ir kaip *Stenactis annua* (L.) Nees, *Phalacroloma septentrionale* (Fern. ir Wieg.) Tzvel., *Erigeron strigosus* Mühlenberg ex Willd. ir kt. (Lietuvos TSR Flora, 1980). Tai vienmetis, kartais dvimetis, nuo 40 cm iki 100 cm aukščio augalas stačiu šakotu stiebu, kurio apatinė dalis apaugusi retais, ilgais plaukeliais, o viršutinė – trumpesniais ir į viršų palinkusiais. Lapai pražanginiai, ištisiniai, plaukuoti, rečiau pliki. Pamatiniai lapai 5-15 cm ilgio ir 1,5-4 cm pločio, kiaušiniški arba pailgai kiaušiniški, stambiai dantyti, ilgakočiai, žydėjimo metu dažnai būna jau nudžiūvę. Apatiniai ir viduriniai lapai 3-5 cm ilgio, 1-3 cm pločio, atvirksčiai kiaušiniški, dantyti, susiaurėję į trumpesnę ar ilgesnę lapkotį; viršutiniai lapai 1,5-2 cm ilgio ir iki 0,5 cm pločio, lancetiški, lygiakraščiai, bekočiai. Graižai būna 1,5-1,7 cm pločio, susitelkę į viršūninę šluotelę. Kraštiniai žiedai liežuviški, piesteliniai, išsidėstę dviem ratais, balti, kartais melsvi, jų vainikėlio atbraila 5 mm ilgio ir 0,5 mm pločio, su dviem danteliais; vamzdiški žiedai – geltoni, dvilyčiai.



1 PAV. Vienmetė šiušelė (*Erigeron annuus* (L.) Pers.). A – bendras augalo vaizdas, B – graižai.

Šiušelės vaisiai yra 1–1,5 mm ilgio, plokšti, lancetiški, su nevienodais skristukais: vamzdiškų žiedų vaisiaus skristukas iš suaugusių labai trumpų, plėnelinių, skiautėtomis viršūnėmis plokštelių ir 10-15 ilgų (iki 2 mm ilgio) plaukelių, o liežuviškų žiedų vaisiaus skristukas be plaukelių (Lietuvos TSR flora, 1980). *E. annuus* gerai auga atvirose saulėtose vietose, nors gerai toleruoja ir pavėsį. Tai nereikli dirvožemiui rūšis, galinti augti žvyre ir molyje. Vienmetė šiušelė – drėgmiamėgė rūšis, gerai pakelianti sausrą. Trūkstant drėgmės, apatiniai lapai pagelsta ir nudžiūsta. Žiedus lanko įvairūs vabzdžiai, dažniausiai plėviasparniai.

E. annuus morfologiniai požymiai labai varijuoja. Analizuojant literatūrą matyti, kad ypač daug diskusijų kelia kai kurių *E. annuus* morfotipų panašumas į *E. strigosus*. Abi rūšys labai plastiškos. Cronquist (1980) aprašė morfologinius požymius (aukštį, stiebo plaukuotumą, lapų gausumą, pagrindinio lapo dantytumą), pagal kuriuos šias rūšis galima atskirti. Vis dėlto, Stratton (1988, 1991) tyrimai parodė, kad pagrindinio (pamatinio) lapo ilgis, plotis, forma, o taip pat pagrindinio lapkočio ilgis labai priklauso nuo augalo aprūpinimo maisto medžiagomis. Be to, pagal Cronquist (1980) pateiktus duomenis, yra plačiai paplitusi ir tarpinė rūšis. Šį tarpinį taksoną įvairūs autoriai vadino skirtingai. Pavyzdžiui, Fernald ir Wiegand (1913) apibūdino jį kaip *E. ramosus* B.S.P. var. *septentrionalis* Fern. & Wieg. Vėliau Fernald (1942) pateikė

kitą pavadinimą – *E. strigosus* var. *septentrionalis* (Fern. & Wieg.) Fern., o Wagenitz (1965) modifikavo jį į *E. annuus* ssp. *septentrionalis* (Fern. & Wieg.).

Frey su kolegomis (2003) išsamiai nagrinėjo šią problemą naudodami ne tik morfometrinius, bet ir citologinius metodus. Buvo analizuojami ne tik skirtinguose žemynuose surinkti augalų pavyzdžiai, bet ir prieinama, herbariumuose esanti, medžiaga. Autorius domino, ar būtų galima morfologiškai atskirti minėtus tris taksonus? Daug dėmesio buvo skirta ir biologinių ypatybių, pirmiausiai dauginimosi būdų, analizei. Atliktas tyrimas parodė, kad Europoje nėra *E. strigosus*, o jį primenantis morfotipas *septentrionalis* pagal kariotipą ir dauginimosi ypatybes turi būti priskirtas prie *E. annuus* ir turėtų vadintis *E. annuus* ssp. *septentrionalis*. Šis morfotipas, kaip ir *E. annuus*, yra triploidas ir jam taip pat būdinga agamospermija. *E. strigosus* yra lytiškai besidauginanti rūšis, kuri dažniausiai yra diploidinė, nors randami ir tetraploidiniai augalai ($2n = 4x = 36$). Frey (2003) aprašė *E. annuus* fenotipinio plastiškumo pasireiškimo formą, vadinamą „šienavimo efektu“. Jis pastebėjo, kad po šienavimo atžėlę augalai iš „*annuus*“ morfotipo pasikeitė į „*septentrionalis*“.

E. annuus yra žiemojantis vienmetis augalas, bet pavieniai individai gali būti dvi-mečiai ar trumpai gyvenantys daugiamečiai. Pastarieji dažniau sutinkami kalnuotose vietovėse arba šienaujamuose plotuose. Vienmetės šiušelės sėklos subręsta vėlai vasarą, sudygę augalai peržiemoja skrotelių stadijoje, o vasarą užaugina stiebus ir pradžysta.

E. annuus yra apomiktinė rūšis, gemalą formuojanti mejozinės diplosporijos būdu (Gustafsson, 1946). Mejozinės diplosporijos atveju gemalo maišelis išsivysto iš motininės megagametofito ląstelės tiesiogiai mitozės būdu. Mejozė nevyksta, tačiau susidaro tipiškas 7-ių ląstelių gemalo maišelis (Rančelis, 2008). Nustatyta, kad retkarčiais, įvyksta ir lytinis dauginimasis, dėl to *E. annuus* laikoma fakultatyviniu apomiktu (Noyes, 2000; Edwards ir kt., 2006). Per sezoną kiekvienas *E. annuus* augalas gali subrandinti iki 50000 smulkių, vėjo platinamų sėklų (Stratton, 1989). Stratton (1991) nustatė, kad didžiausias (64 %) vidutinis sėklų daigumas buvo 19 °C temperatūroje. Keliant temperatūrą vidutinis sudygimo laikas mažėjo linijiškai nuo 11,8 dienos (esant 10 °C temperatūrai) iki 5,4 dienos (esant 30 °C temperatūrai).

Trtikova (2009) tyrė, kaip šienavimas ir konkurencija veikia *E. annuus* augimą ir dauginimąsi Šveicarijos Alpėse skirtingame aukštyje (400 m ir 1000 m). Konkurencija palyginti su kontrole neigiamai veikė vegetatyvinį augimą abejose tyrimo vietose,

ypač toje vietoje, kuri buvo 1000 m aukštyje; neturėjo įtakos žiedynų skaičiui 400 m aukštyje, tačiau augalų, augusių 1000 m aukštyje, žiedynų skaičius sumažėjo 13 %. Po šienavimo augalai ataugo abiejuose tyrimo vietose. 400 m aukštyje šienavimas padidino žiedynų skaičių 28 %, bet tiek pat sumažino 1000 m aukštyje. Taigi, šie tyrimai rodo, kad *E. annuus* gali gerai toleruoti ir konkurenciją, ir šienavimą žemesnėse altitudėse, bet aukščiau kalnuose šie veiksniai apriboja jos plitimą.

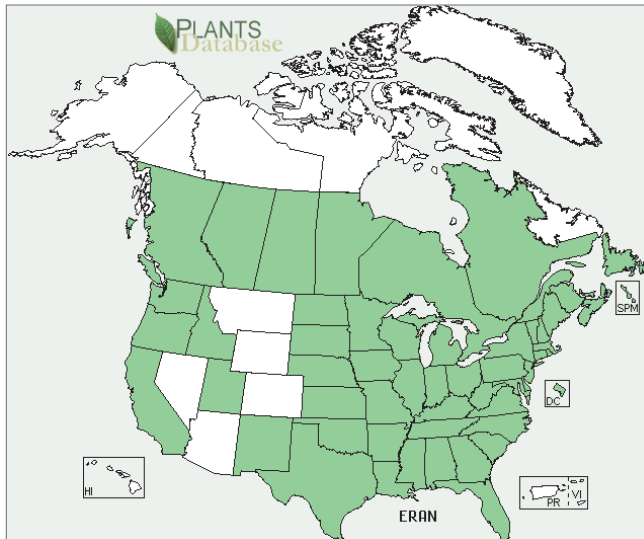
Trtikova su bendradarbiais (2010) paskelbė tyrimų, kuriuose analizavo rūšies fenotipinio plastiškumo ir vietinės adaptacijos įtaką *E. annuus* prisitaikymui augti įvairiame aukštyje (400 m ir 1000 m), rezultatus. Įprasta šios rūšies paplitimo zona yra 400 m virš jūros lygio, o 1000 m – viršutinė rūšies paplitimo riba Alpėse. Augalai, augę skirtinguose aukščiausiuose virš jūros lygio, buvo tiriami vienodomis sąlygomis. Tyrimai parodė, kad šiušėlės vienodai gerai auga abiejose tyrimo vietose. Tačiau 27 % daigų, rudenį pasodintų 1000 m aukštyje esančiame sklype, žiemą žuvo. Šiame aukštyje augalai lėčiau vystėsi, o žiedynų skaičius buvo 39 % mažesnis palyginti su augalų, kurie augo 400 m aukštyje. Tačiau sėklos, kurios subrendo 1000 m aukštyje, buvo didesnės. Tyrimas atskleidė, kad augalų augimas ir dauginimasis nepriklausė nuo jų ankstesnės augimo vietos. Šie rezultatai parodė, kad rūšies išgyvenimas skirtingose altitudėse nepriklausė nuo adaptacijos vietos sąlygoms. Tokios adaptacijos nebuvimas matyt ir nulemia rūšies paplitimo ribas Alpėse.

Minėtame Frey su kolegomis darbe (2003) buvo paskelbta, kad *E. annuus* ne tik gerai atauga po šienavimo, bet, būdama plastiška rūšis, parodo ir stiprų atsaką į šienavimą: pasikeičia lapų forma, kuri kartais gali suklaidinti nustatant taksoną. Trtikovos (2009) atliktame eksperimente augalai, kurie buvo auginami konkurencinės kovos su kitais žoliniais augalais sąlygomis, turėjo reikšmingai mažiau stiebų, bet daugiau žiedynų ant stiebo palyginti su kontrolės augalais. Šienaujami augalai turėjo daugiau stiebų, bet mažiau lapų ir žiedynų ant stiebo nei kontroliniai augalai. Tiek esant konkurencijai, tiek šienaujant, mažiau stiebų, lapų ir žiedynų turėjo augalai, kurie augo 1000 m aukštyje palyginti su augusiais 400 m aukštyje. Reikšmingai skyrėsi ir lapų forma. Prieš šienavimą siauresni lapai buvo tų augalų, kurie augo 1000 metrų aukštyje, o 400 m aukštyje augusių šiušelių lapai buvo siauresni po šienavimo.

Kaip minėta, *E. annuus* yra triploidas. Kariologinius *E. annuus* tyrimus atliko daugelis mokslininkų: Tahara (1921), Huziwara (1958), Montgomery ir Yang (1960), Arano (1965). Bijok ir kt. (1972) atliko *E. annuus* Lenkijos populiacijų kariologinę

analizę. Visų tirtų *E. annuus* pavyzdžių chromosomų skaičius buvo $2n = 3x = 27$. Frey ir kt. (2003) paskelbė išsamius *E. annuus* citologinius tyrimus. Augalai kariotipavimui buvo išauginti iš sėklų, surinktų Europoje (Italijoje, Prancūzijoje, Vokietijoje) ir Jungtinėse Amerikos Valstijose (Floridoje, Pietų, Šiaurės Karolinoje). Visuose tirtuose *E. annuus* pavyzdžiuose nustatytas vienodas chromosomų skaičius ($2n = 3x = 27$). Autoriai patikrino ir anksčiau publikuotus iš herbariumų paimtų *E. annuus* pavyzdžių chromosomų skaičiaus tyrimų rezultatus. Buvo išanalizuoti 27 *E. annuus* herbariumo pavyzdžiai iš Šiaurės Amerikos ir 17 iš kitų pasaulio šalių. Visų jų, išskyrus vieno, chromosomų skaičius buvo $2n = 3x = 27$. Pavyzdyje iš Šiaurės Amerikos buvo nustatyta 18 chromosomų.

E. annuus yra savaiminė rūšis Šiaurės Amerikos rytuose (Stratton, 1992). Natūralaus paplitimo ribose vienmetė šiušėlė aptinkama prerijose, bet gali būti randama ir pažeistose, žmogaus veiklą patiriančiose augavietėse, panašiose į tas, kuriose šis augalas auga Vakarų Europoje (Wilson ir Hartnett, 1998; Edwards ir kt., 2006). Šiuo metu rūšis paplitusi beveik visoje Šiaurės Amerikoje (2 pav.).



2 PAV. *Erigeron annuus* paplitimas Jungtinėse Amerikos Valstijose ir Kanadoje (Flora of North America; <http://luirig.altervista.org/schedenam/fnam.php?taxon=Erigeron+annuus>)

17 amžiuje *E. annuus* kaip dekoratyvinis augalas buvo atvežtas į Europą ir ypač plačiai paplito (Halliday, 1976; Rothmaler ir kt., 1994) ruderalinėse augavietėse (Cronquist, 1995). 1635 m. Europoje *E. annuus* pradėtas auginti Paryžiaus botanikos sode, po to galimai perkeltas į Anglijos botanikos sodus ir, tikriausiai, vykdant augalų

mainus, pateko ir į kitus botanikos sodus (Edwards ir kt. 2006). Nuo 18 amžiaus išlikę įrašai apie *E. annuus* auginimą įvairiuose Vokietijos miestuose, o nuo 19 amžiaus vidurio nuoroda į šią rūšį yra beveik visuose Vidurio Europos florą aprašančiuose leidiniuose. Pirmasis įrašas herbariume apie šios rūšies natūralizaciją Šveicarijoje buvo padarytas 1828 metais (Frey ir kt., 2003). Remiantis Lauber ir Wagner (1998), *E. annuus* plitimo laikotarpis Šveicarijoje buvo nuo 1770-ųjų metų iki 1870-ųjų. Dabar *E. annuus* augalai plačiai paplitę daugumoje didžiųjų Šveicarijos miestų, tokių kaip Ciurichas, Bazelis ir kt. Šveicarijoje dažniausiai jis aptinkamas žemumose ir Alpėse iki 1000 m aukštyje, bet buvo surastas ir 1790 m aukštyje (Becker ir kt., 2005). Atšiauresnės klimato sąlygos riboja *E. annuus* paplitimą didesniame nei 1000 m aukštyje Šveicarijos Alpėse. Klimato atšilimas gali paskatinti šios rūšies paplitimą, sumažindamas augalų žuvimą žiemos metu ir padidindamas galimybę subrandinti sėklas iki augimo sezono pabaigos.

Manoma, kad Lietuvą *E. annuus* pasiekė iš Vakarų Europos 19 amžiaus pabaigoje. Tikriausiai, buvo atvežtas kaip dekoratyvus augalas ir išplito ekosistemose (Kuprevičius, 1931; Mowszowicz, 1938). Pirmajame darbe, skirtame Lietuvos svetimkraščių rūšių inventorizacijai, vienmetė šiušėlė minima kaip reta rūšis (Natkevičaitė, 1951). Dabar Lietuvoje šios rūšies augalai yra intensyvaus plitimo stadijoje (Patamsytė ir kt., 2013). Dažniausiai auga pakelėse, apleistuose laukuose, prie upių, ežerų, kaip piktžolės paplitę miestuose, daugiausia pietų ir pietryčių regionuose. Vienmetė šiušėlė įtraukta į Lietuvos invazinių augalų sąrašą (Gudžinskas, 1997; NOBANIS; Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2015 m. liepos 20 d. įsakymo Nr. D1-551 redakcija).

1.5. *Erigeron annuus* genetiniai ypatumai

Vienmetės šiušėlės molekuliniai genetiniai tyrimai buvo atliekami naudojant tarprūšinę hibridizaciją ir molekulinį žymenų metodus. Jie buvo pritaikyti nustatant lokusus, kontroliuojančius partenogenezę ir agamospermiją, o taip pat vidurūšinį polimorfizmą bei populiacijų genetinę struktūrą. Žiedinių augalų sėklų susidarymas nelytiniu būdu (agamospermija) vykstant gametofitinei apomiksei dažniausiai yra susijęs su neredukuoto megagametofito susidarymu ir neredukuotos kiaušialąstės vystymusi į embrioną. Noyes ir Rieseberg (2000) tyrė šį reiškinį ir jo genetinę determinaciją šiušėlėse. F₁ hibridų tarp *E. annuus* ir *E. strigosus* analizė, panaudojant

AFLP žymenis ir nustatant jų sankibą su tokiais požymiais kaip diplosporija (nereduotų megasporų susidarymas) ir partenogenezė, parodė, kad šie požymiai paveldimi nepriklausomai. Kitame, tais pačiais metais paskelbtame, darbe šie autoriai, tirdami RAPD žymenų paveldėjimą tarprūšiniuose hibriduose nustatė, kad diplosporiją šiušėlėje kontroliuoja vienas genetinis lokusas, turintis du alelius (Noyes ir Rieseberg, 2000). Vis dėlto naujausi *E. annuus* tyrimai susiję su invazyvumo ir populiacijų genetinės struktūros analize. Nors šios rūšies lytinis dauginimasis tiesiogiai neįrodytas, tačiau daugelis vienmetės šiušėlės populiacijų pasižymi gana dideliu genetiniu polimorfizmu. Pirmiausiai tai buvo pademonstruota atlikus baltymų polimorfizmo tyrimus. Hancock ir Wilson (1976), tirdami keturis izozimų lokusus trijose greta įsikūrusiose *E. annuus* populiacijose, nustatė iš viso 17 genotipų. Panašius rezultatus gavo ir Stratton (1988), kuris taip pat tyrė keturis izozimų lokusus. Populiacijoje nustatė vidutiniškai po 7,2 polimorfino genotipo. Stratton taip pat parodė (1992), kad apie 10-15 % *E. annuus* žiedadulkių yra gyvybingos, o Noyes (2000) nustatė, kad šie apomiktiniai augalai visgi gali sudaryti apie 0,4 % mejozinių gametofitų. Taigi šie rezultatai parodė, kad vienmetė šiušėlė retkarčiais dauginasi lytiškai, o tai ir lemia gana didelę populiacijų genetinę įvairovę. Dar akivaizdesni šio reiškinio įrodymai buvo gauti naudojant DNR žymenis (Edwards ir kt., 2006).

Tiriant *E. annuus* augalų, augančių Ciuricho mieste, RAPD fenotipų įvairovę, buvo surinkti ir ištirti 134 augalai, imant po vieną augalą iš kiekvieno 1 km ilgio kraštinę turinčio kvadrato, į kuriuos pagal tyrimų schemą buvo padalintas miestas. Iš viso buvo nustatytas 71 RAPD fenotipas. 52 RAPD fenotipai buvo aptikti tik vieną kartą, 9 – du kartus. Keletas RAPD fenotipų pasitaikė dažnai, vienas buvo užfiksuotas 14 kartų, kitas – 12 (Frey, 2003). Buvo tiriama *E. annuus* populiacijų iš 21 Šveicarijos miesto RAPD fenotipų įvairovė. Augalai buvo renkami iš vienos tam tikro miesto populiacijos, mažiausias atstumas tarp augalų – 2 metrai. Ištyrus 146 augalus nustatyta 60 RAPD fenotipų. Rezultatai parodė, kad skirtingų miestų populiacijų RAPD fenotipų įvairovė labai nevienoda. Kūro (Chur), Šafhauzeno (Schafhausen), Siono miestų populiacijų augalai buvo to paties fenotipo. Labiausiai polimorfiška buvo Berno populiacija (ištyrus 8 augalus joje buvo nustatyti 7 RAPD fenotipai). Tačiau, nebuvo nustatyta koreliacijos tarp fenotipų įvairovės ir populiacijos dydžio. Tyrimai parodė, kad kai augalai miestuose buvo renkami dideliu atstumu (ne mažesniu nei 500 m)

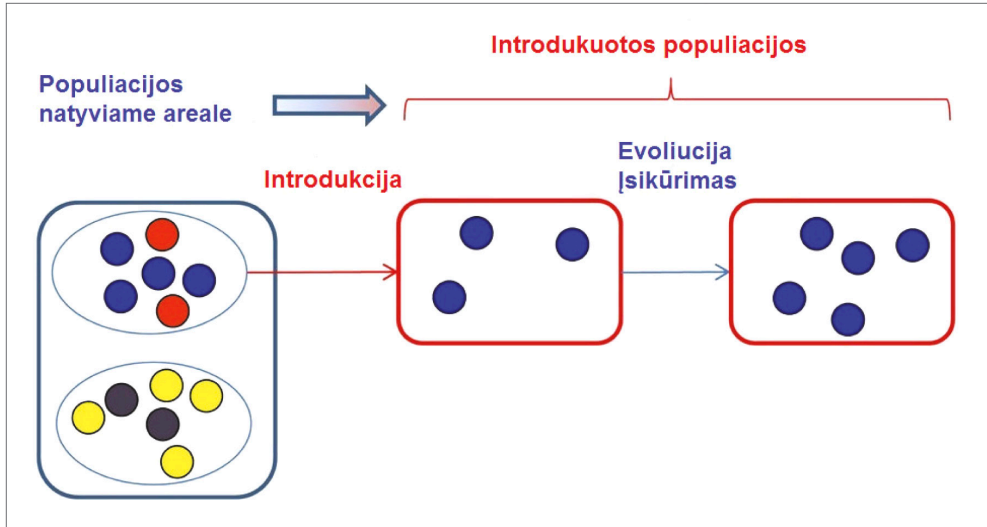
vienas nuo kito, RAPD fenotipų įvairovė buvo daug didesnė: ištyrus 10 augalų iš St. Gallen miesto populiacijos buvo nustatyta 10 RAPD fenotipų, ištyrus po 15 augalų iš Baselio ir Lugano miestų populiacijų – 13, ištyrus 13 augalų iš Ženevos populiacijos – 11, o ištyrus 15 iš Berno populiacijos – 11 (Frey, 2003). Rezultatai parodė, kad mažose vietinėse populiacijose įprasta rasti daug to paties RAPD fenotipo augalų. Tačiau, kai augalus skiria keli šimtai metrų, jie dažniausiai skiriasi genetiškai. Tokią erdvinę struktūrą būtų galima paaiškinti tuo, kad atsitiktinis lytinis dauginimasis sukuria naujus genotipus; nelytinis dauginimasis apomiksės būdu sukuria daugiau to paties genotipo individų, o gamtinė atranka nulemia genotipų sėkmę.

Edwards ir kt. (2006), naudodami RAPD metodą, palygino *E. annuus* natyvių populiacijų iš Šiaurės Amerikos ir invazinių Europos populiacijų genetinę įvairovę. Pagrindinė prielaida šiems tyrimams atlikti buvo jau anksčiau aprašyti invazinėse populiacijose vykstantys evoliuciniai procesai, kurie nulemia genetinių skirtumų tarp natyvių ir invazinių kai kurių rūšių populiacijų atsiradimą (Ellstrand ir Schierenbeck 2000; Sakai ir kt., 2001; Leger ir Rice, 2003). Tyrimams buvo surinkta 400 pavyzdžių iš 80-ties populiacijų Europoje ir 219 pavyzdžių iš 57-ių populiacijų Jungtinėse Amerikos Valstijose. Autoriai nustatė didelį RAPD fenotipų polimorfizmą. Iš viso buvo nustatytas 201 RAPD fenotipas (134 fenotipai augaluose iš Jungtinių Amerikos Valstijų populiacijų, 67 – iš Europos). Dauguma RAPD fenotipų buvo užfiksuoti tik vieną ar du kartus, bet keletas buvo aptinkami labai dažnai. Trys dažniausiai pasitaikantys RAPD fenotipai buvo nustatyti atitinkamai 55, 64, 65 kartus. Tarp dažniausiai pasitaikančių ir tie devyni, kurie buvo randami ir Europos populiacijose, ir Jungtinių Amerikos Valstijų. Kaip matyti iš pateiktų skaičių, fenotipų įvairovė buvo didesnė natyviose populiacijose. Tačiau kai kurie RAPD fenotipai buvo būdingi tik invazinėms Europos populiacijoms. Šie rezultatai dar kartą parodė, kad lytinis dauginimasis ir jo metu vykstanti genetinė rekombinacija yra svarbūs procesai, nulemiantys *E. annuus* genetinę struktūrą. Taip pat buvo pastebėta, kad kai kurios vienmetės šiušėlės genetinės linijos buvo labiau apomiksinės nei kitos ir suvaidino svarbų vaidmenį rūšiai plintant Europos žemyne.

Trtikova ir kt. (2011) taip pat tyrė, ar adaptacija prie vietinių sąlygų buvo svarbi *E. annuus* paplitimui Alpių kalnuose, kuriuose ši rūšis pasiekia maždaug 1000 m aukštį. Buvo palyginti augalų, įsikūrusių skirtinguose aukščiuose, morfologiniai

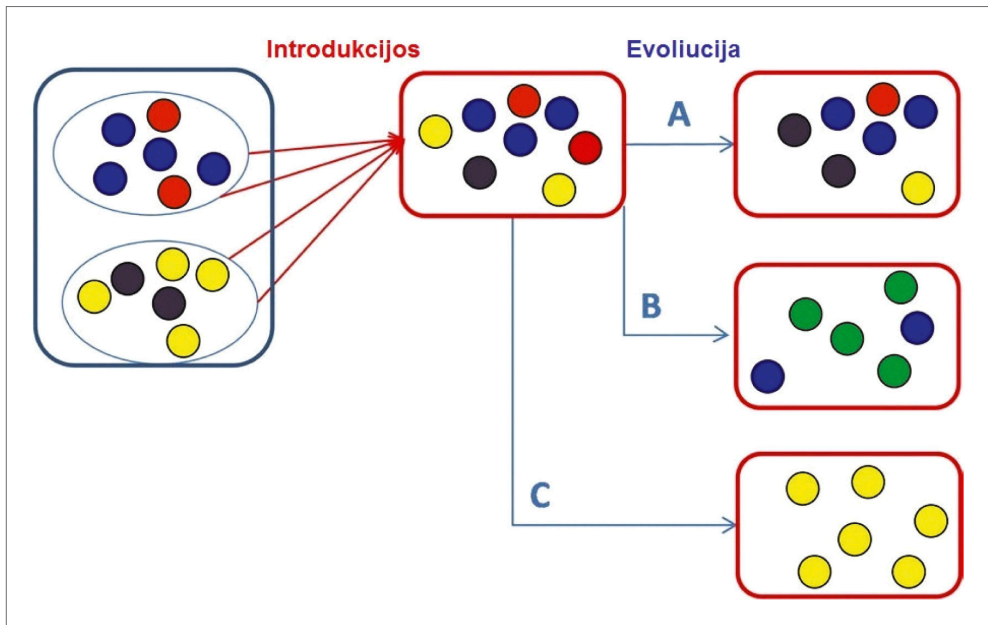
požymiai, genetinio kintamumo populacijose priklausomybė nuo altitudės, retų ir dažnų genotipų paplitimo skirtinguose aukščiuose dėsningumai. Šie mokslininkai taip pat tyrė, kokią įtaką šiušelių biologinėms savybėms turėjo rūšies plitimą ribojančios sąlygos. Lauko bandymai parodė, kad nepaisant to, jog *E. annuus* retai auga didesniame nei 1000 m aukštyje, šios sąlygos neturėjo įtakos augalų morfologijai. Stebimas santykinai geras augalų prisitaikymas augti netgi ribiniame rūšies paplitimui aukštyje, rodo, kad rūšiai būdingas didelis fenotipinis plastiškumas. Tačiau atlikus AFLP tyrimus, buvo pastebėtas genetinės įvairovės sumažėjimas aukštai įsikūrusiose populacijose. Be to aukštumų (711–1100 m aukštyje) populiacijos buvo labiau diferencijuotos ($G_{st} = 0,55$) palyginti su žemumose (200–530 m aukštyje) įsikūrusiomis populacijomis, kurių genetinės diferenciacijos koeficientas $G_{st} = 0,33$. Lauko bandymai taip pat parodė, kad reti, tik vienoje populiacijoje nustatyti genotipai augo ir vešėjo prasčiau, palyginti su plačiai paplitusiais genotipais. Retų genotipų reprodukcinis potencialas taip pat buvo prastesnis. Autoriai nenustatė adaptacinių pokyčių genotipų lygmenyje ir padarė išvadą, kad altitudės poveikis genotipų įsitvirtinimui yra mažas, o stebimus genetinės įvairovės pasiskirstymo dėsningumus nulemia atsitiktinis lytinis dauginimasis, sėklų išbarstymas ir žuvinimas, kuriam altitudė neturi didelės įtakos. Tokią situaciją, kai kalnų populacijose yra mažesnė genetinė įvairovė, autoriai aiškina šių populiacijų nutolimu nuo rūšies didelio išplitimo vietų žemumose. Dėl to didesniuose aukščiuose augančioms populacijoms tenka daug mažesnis sėklų kiekis. Tai, kad kalnų populiacijų genetinė diferenciacija didesnė ir tai, kad daug potencialių vietų, kurios tinkamos populacijoms įsikurti, yra neužimtos, rodo, kad žiemą dalis kalnų populiacijų žūsta ir yra periodiškai atkuriamos iš žemumų populiacijų genetinės medžiagos. Todėl didesnę diferenciaciją lemia ne adaptacija, o pradininko efektas ir mažesnė reprodukcinės medžiagos skvarba palyginti su žemumų populacijomis. Svetimkraščių rūšių plitimas naujose teritorijose dažnai susijęs su pradininko efektu. Yra nemažai duomenų, kurie parodo, kad šis reiškinys gali būti susijęs su greitais genetiniais ir morfologiniais rūšies pokyčiais (3 pav.). Į naują teritoriją patenka tik dalis genetinės įvairovės, kuri aptinkama tuose arealuose, kuriuose rūšis yra vietinė (Nei ir kt., 1975; Barrett ir Husband, 1990). Nei ir kt., (1975) parodė, kad genetinės įvairovės netekimui įtakos turi efektyvus minimalus (ar pradinis) populiacijos dydis (N_e) ir populiacijos augimo greitis. Daugelio tyrimų rezultatai patvirtino, kad mažesnis N_e ir

populiacijos augimo greitis turi įtakos alelių, ypač tų, kurie yra reti, praradimui (Leberg, 1992; England ir kt., 2003; Eldridge ir kt., 2004). Taip pat nustatyta, kad daugkartinė, ilgą laiką trunkanti, introdukcija didina genetinę įvairovę ir alelių variacijas (4 pav.) (Novak ir Mack, 2005).



3 PAV. Pradininko efekto pasireiškimas introdukuotose populiacijose. Pradininko efektas sukelia genetinės įvairovės praradimą invaziniame areale. Introdukuotos populiacijos gali įsikurti, jei bus lokaliai adaptuotos (Viard ir Comtet, 2015)

Pradininko efekto stiprumas labai priklauso nuo introdukcijų ir introdukuojamų individų, kuriuos apriboja rūšies populiacijų genetinė struktūra natyviame areale, skaičiaus (Shirk ir kt., 2014). Genetinės įvairovės pasiskirstymas natyviame areale gali būti svarbus veiksnys apsprendžiantis genetinės įvairovės dalį, kuri pateks su pradine reprodukcinė medžiaga į naują teritoriją. Pavyzdžiui, jeigu natyvios populiacijos yra mažai genetiškai diferencijuotos, tai didžioji genetinės įvairovės dalis bus populiacijų viduje. Dėl to vienos introdukcijos metu potencialiai ji gali būti pernešta į invazinį arealą ir tokiu būdu gali būti sumažintas pradininko efektas. Tačiau, jeigu vietinės populiacijos yra labai diferencijuotos (labai išreikšta jų genetinė struktūra), tai atskiros introdukcijos metu į invazinį arealą pateks mažesnė dalis natyvių populiacijų alelių, dėl to sustiprės pradininko efektas.



4 PAV. Populiacijų genetinė struktūra esant introdukuojamos reprodukcinės medžiagos gausai. Vykstant daugkartinėms introdukcijoms invazinėse populiacijose palyginti su vietinėmis genetinė įvairovė nesumažėja. A – genetinė įvairovė introdukuotose populiacijose bėgant laikui gali išlikti jeigu yra adaptyvi arba neutrali, B – gali susidaryti nauji genetiniai variantai (žali skrituliai), adaptuoti vietos sąlygoms, jeigu vyks populiacijų maišymasis (hibridizacija), C – gali keistis alelių dažnis, jeigu esamą genetinę įvairovę veiks atranka (Viard ir Comtet, 2015)

1.6. *E. annuus* alelopatijos tyrimų apžvalga

Alelopatijos reiškinį XX amžiaus pradžioje aptiko Hansas Molish, tyrinėdamas etileno poveikį augalų augimui. Jis pasiūlė ir terminą „alelopatija“ (gr. *allelon* – tarpusavio + *pathos* – poveikis). Tuo metu alelopatiją jis aprašė kaip teigiamą ar neigiamą biocheminę organizmų sąveiką (Chou, 2006). Vėliau ši sąvoka buvo išplėsta, į jos apibrėžimą įtraukiant ir sąveiką tarp aukštesniųjų augalų. Šiuo metu sukaupta daug mokslinės informacijos apie augalų atsako į įvairius stresą sukeliančius veiksnius molekulinis ir genetinius mechanizmus. Tačiau apie augalo išskiriamų junginių poveikio „kaimyniniams“ augalams ir atsako į jį mechanizmai dar nepakankamai aiškūs (Chou, 2006; Bogatek ir Gniazdowska, 2007; Blair ir kt., 2009; Kamal, 2011; Lorenzo ir kt., 2010; Gulzar ir Siddiqui, 2014). Pastaruoju metu didėja dėmesys alelopatijai ir kaip vienam iš augalų invazijos mechanizmų. Nustatyta, kad kai ku-

rie augalų išskiriami alelopatiniai junginiai, pavyzdžiui juglonas, išskirtas iš juodojo riešutmedžio *Juglans nigra* L. (Babula ir kt., 2014) turi didelės įtakos sėklų daigumui ir augalų augimui. Išsamiai ištirtas invazinių augalų, pavyzdžiui, mimozos *Acacia dealbata* Link (Lorenzo ir kt., 2010); rykštenės *Solidago canadensis* (Yuan ir kt., 2013, Dong ir kt., 2015), Eurazijos varpotosios plunksnalapės *Myriophyllum spicatum* L. (Zhu ir Georgian, 2014) alelopatinis potencialas. Daugeliu atvejų šie invaziniai augalai slopino vietinių augalų augimą (mažėjo sėklų daigumas, trumpėjo stiebų ir šaknų ilgiai).

Csiszár ir kt., (2009), naudodama Szabo metodą (1997), įvertino Vengrijos invazinių ir potencialiai invazinių neofitų alelopatinį potencialą. Buvo ištirta 14 sumedėjusių augalų rūšių ir 20 žolinių, iš kurių viena – *E. annuus*. Augalų alelopatinis potencialas buvo tiriamas stebint ir palyginant atskirų rūšių augalų vandeninių ekstraktų ir juglono poveikį *Sinapsis alba* L. sėklų daigumui, šaknų ir stiebų ilgiui. Gauti rezultatai parodė, kad *E. annuus* augalai, kaip ir dauguma tirtų rūšių augalų, pasižymi alelopatinėmis savybėmis. Iš *E. annuus* žiedų buvo išskirta (5-Butyl-3-oxo-2,3-dihydrofuran-2-yl)-acto rūgštis arba kitaip vadinama erigeroninė rūgštis, kuri pasižymi sėklų daigumą slopinančiu poveikiu (Oh ir kt., 2002). Šiame tyrime buvo nustatyti dar trys aktyvūs junginiai, kurie slopino salotų sėklų daigumą. Gogoi ir Argade (2006) atliko išsamią erigeroninės rūgšties cheminę analizę.

Tirdami *E. annuus* invazyvumo mechanizmus, Junhong ir kt. (2007) naudojo skirtingos koncentracijos vandeninius *E. annuus* ekstraktus, kuriais veikė keturių rūšių (*L. sativa*, *C. sativus*, *B. campestris* ir *R. sativus*) augalų sėklas ir daigus. Buvo pastebėta, kad didinant ekstraktų koncentracijas, stiprėjo slopinamasis jų poveikis sėklų daigumui. Pagrindinės šaknies augimą stipriai slopino ir mažesnės, ir didesnės koncentracijos *E. annuus* ekstraktai. Tiriant daigų augimą, mažos vandeninių ekstraktų koncentracijos skatino daigų augimą, o didelės – slopino. Šie rezultatai rodo, kad *E. annuus* pasižymi alelopatiniu poveikiu, dėl kurio labai sumažėja sėklų daigumas ir pagrindinės šaknies augimas.

Xiao-yong ir kt. (2009) tyrė 20-ties rūšių, tarp jų ir *E. annuus*, augalų įvairių organų alelopatinį potencialą. Augalų organai buvo sumalami ir įterpiami į agarizuotą terpę, ant kurios buvo auginami salotų daigai. Salotų daigų augimą slopino visų tiriamų sumaltų augalo organų (lapų, žiedų, šaknų, stiebų) mėginiai. Ypač stipriai buvo slopinamas poskilčio augimas.

Park ir kt. (2011), ištyrę *Eupatorium rugosum* ir *E. annuus* augalų lapų vandeningų ekstraktų alelopatinį poveikį *Lactuca sativa* ir *Raphanus raphanistroides* šakniaplaukių vystymuisi, nustatė, kad didinant abiejų rūšių tiriamųjų augalų lapų ekstraktų koncentracijas, stiprėjo šakniaplaukių vystymosi slopinamas. *E. rugosum* ir *E. annuus* vandeniniai ekstraktai slopino *L. sativa* ir *R. raphanistroides* ankstyvąjį augimą, tačiau stipresnis alelopatinis efektas buvo ekstraktais veikiant *L. sativa* nei *R. raphanistroides*.

Vieni naujausių tyrimų (Fabbro ir kt., 2014), kurių metu buvo tiriama trijų Europos invazinių augalų rūšių (*Solidago gigantea*, *Impatiens glandulifera*, *E. annuus*) alelopatija, parodė, kad šių rūšių augalai labiau slopina vietinių augalų sėklų sudygimą palyginti su kaimyniniais vietinių bendrijų augalais. Jie palygino vietinių rūšių, kurios buvo pasėtos bandomuosiuose ploteliuose kartu su invazinėmis rūšimis ir be jų, sėklų daigumą. Norėdami sumažinti potencialių alelopatinių junginių poveikį, tyrėjai praturtino pusę tokių plotelių aktyvuota anglimi. Sėklų daigumas buvo stebimas 9-ias savaites. Jis nesiskyrė plotuose su invazinėmis rūšimis ir be jų. Po aktyvintos anglies poveikio padidėjo sėklų daigumas. Toks aktyvuotos anglies poveikis buvo panašus abiejų tipų ploteliuose augusiems augalams. Tai rodo, kad invazinės rūšys augdamos gamtinėse sąlygose, kurios buvo panaudotos šiame eksperimente, neslopina sėklų daigumo labiau, nei vietinių bendrijų augalai. Visgi yra bent du būdai paaiškinti tam, kodėl gauti rezultatai panašūs tiriant tiek invazinių, tiek ir neinvazinių rūšių fitotoksinį poveikį. Pirma, atstumas tarp plotelių su invazinėmis rūšimis ir be jų galėjo būti nepakankamai didelis, ir invazinių augalų išskiriami alelopatiniai junginiai galėjo pasklisti į plotelius, kuriuose nebuvo invazinių rūšių augalų. Antra, aktyvinta anglis potencialiai gali pakeisti dirvožemio savybes, tokias kaip augalams prieinamų fosforo ir kitų elementų kiekius, vandens išlaikymą, rūgštingumą ir kt.

Kai kurie autoriai mano, kad bandymai atliekami Petri lėkštelėse gali pervertinti alelopatinį efektą palyginti su lauko sąlygomis (Keeley, 1988), kurioms esant gali vykti alelochemikalų transformacija dėl organinių ir neorganinių dirvos junginių poveikio, dėl adsorbcijos ant dirvožemio dalelių ir kt. (Brückner ir Szabo, 2001). Vykstant šiems sudėtingiems procesams, alelopatiniai junginiai gali prarasti alelopatinį efektą, bet taip pat gali jį ir išlaikyti. Atsižvelgiant į tai galima teigti, jog *in vitro* tyrimai yra tinkami alelopatinio potencialo įvertinimui, bet šį efektą rekomenduojama patikrinti ir lauko bandymuose.

Nepaisant to, kad invazinių augalų populiacijų genetiniai tyrimai pasaulyje vykdomi jau daugiau nei pusę amžiaus, Lietuvoje, kaip ir kitose Baltijos šalyse, jie pradėti dar visai neseniai. Norėdami praplėsti šių tyrimų Lietuvoje mastą, šiame darbe tyrėme sparčiai plintančios vienmetės šiušelės, kuri atstovauja invazijomis gausią *Asteraceae* šeimą, populiacijų genetinę įvairovę, plitimo dinamiką ir invazyvumą skatinančius mechanizmus.

II. TYRIMŲ MEDŽIAGA IR METODAI

1. *E. annuus* (L.) Pers. populiacijų augalinė medžiaga

Lietuvos populiacijų genetinės įvairovės tyrimas. *E. annuus* Lietuvos populiacijų genetinei įvairovei tirti augalai buvo renkami 29-iose populiacijose. Surinktų pavyzdžių skaičius priklausė nuo populiacijos dydžio ir svyravo nuo 5 iki 12. Iš viso buvo surinkti 328 pavyzdžiai (1 lentelė).

1 LENTELĖ. Lietuvos *E. annuus* populiacijos, jų augaviečių koordinatės ir charakteristika

Nr.	Populiacija	N	Koordinatės (ilg. R; plat. Š)	Augavietė
1	Užutrakis	12	54°39'50", 24°56'40"	Neganoma/nešienaujama pieva
2	Giedraičiai	12	55°02'46", 25°15'20"	Neganoma/nešienaujama pieva
3	Vilnius A	12	55°02'53", 26°13'26"	Dirbtinis šlaitas netoli gatvės
4	N. Janavas	12	54°02'53", 26°13'26"	Neganoma/nešienaujama pieva
5	Vilnius B	12	54°42'06", 25°14'06"	Prie takelio per pušyną
6	Pagiriai A	12	54°34'11", 25°12'14"	Neeksplotuojamų fermų teritorija
7	Roduka	12	54°06'53", 24°14'51"	Jaunas pušynas
8	Daniliškės	12	54°35'48", 25°08'45"	Neganoma/nešienaujama pieva
9	Marijampolė	12	54°33'47", 23°18'57"	Sodas
10	Pagiriai B	12	54°34'59", 25°10'36"	Gyvenvietė
11	N. Vilnia	12	54°41'40", 25°25'44"	Uždaryto fabriko teritorija
12	Bezdonys	12	54°47'07", 25°33'13"	Ganoma/šienaujama pieva
13	Gelgaudiškis	12	55°04'37", 22°51'30"	Jaunas pušynas
14	Kėdainiai	12	55°18'36", 23°58'35"	Teritorija prie geležinkelio
15	Jurbarkas	12	55°04'55", 22°46'51"	Naujas gyvenamasis rajonas
16	Vilnius C	10	54°43'41", 25°15'01"	Pieva prie aukštos įtamos linijos
17	Lielius	12	54°34'28", 24°22'27"	Pakelė
18	Babtai	6	55°04'58", 23°48'03"	Neganoma/nešienaujama pieva
19	Vilnius D	12	54°39'44", 25°14'57"	Geležinkelio sankasa
20	Kulautuva	12	54°56'42", 23°37'59"	Miesto parkas
21	Kalvarija	12	54°24'22", 21°13'27"	Pieva prie tako
22	Mikytai	5	54°07'09", 21°54'56"	Nešienaujama pieva prie gatvės
23	Betygala	7	55°21'03", 23°22'40"	Kapinės
24	Kavarskas	12	55°26'08", 24°55'54"	Kapinės
25	Svėdasai	12	55°40'43", 25°21'31"	Kapinės
26	Kamajai	12	55°49'09", 25°30'54"	Kapinės
27	Kena	12	54°38'45", 25°38'31"	Dalinai šienaujama pieva
28	Mažeikiai	12	56°17'11", 22°21'44"	Prie smėlio duobės
29	Pervalka	12	55°24'54", 21°05'46"	Pakelė

Genetinės įvairovės gradiento Europos šalių populiacijose įvertinimas. *E. annuus* populiacijų genetinės įvairovės gradientui tirti augalai buvo renkami 17-oje populiacijų Lietuvoje, Latvijoje, Lenkijoje, Šveicarijoje. Į tyrimą buvo įtraukta ir viena natyvi populiacija iš Kanados New Brunswick provincijos. Surinktų pavyzdžių skaičius populiacijoje svyravo nuo 12 iki 25. Iš viso buvo surinkti 253 pavyzdžiai (2 lentelė).

2 LENTELE. *E. annuus* Lietuvos, Latvijos, Lenkijos, Šveicarijos, Kanados populiacijos ir jų apibūdinimas

Nr.	Populiacija	Kodas	Pavyzdžių skaičius	Koordinatės (ilg. R; plat. Š)	Augavietė
1	Locarno	LOC	24	46°09'51", 8°47'16"	Šienaujama pieva
2	Sigirino	SIG	12	46°04'41", 8°55'07"	Šienaujama pieva
3	San Antonio	SAN	12	46°10'07", 9°03'15"	Šienaujama pieva
4	Zürich	ZÜR	12	47°23'14", 8°31'59"	Nešienaujama pieva
5	Lublin A	LUA	12	51°11'21", 22°31'32"	Šienaujama pieva prie ežero
6	Szczuczyn	SZC	12	53°34'18", 22°18'05"	Nešienaujama pieva prie gatvės
7	Mragowo	MRA	12	53°51'55", 21°17'26"	Šienaujama pieva prie gatvės
8	Suwalki	SUW	12	54°06'15", 22°56'50"	Šienaujama pieva prie geležinkelio
9	Lublin B	LUB	12	51°11'43", 22°32'17"	Nešienaujama pieva prie gatvės
10	Swieta Lipka	SWI	12	54°01'30", 21°13'00"	Šienaujama pieva prie bažnyčios
11	Daugavpils A	DAA	25	55°51'56", 26°31'42"	Šienaujama pieva prie fabriko
12	Daugavpils B	DAB	12	55°52'23", 26°29'42"	Nešienaujama pieva
13	New Brunswick	NEW	12	46°13'15", 64°32'20"	Nešienaujama pieva
14	Patašinė	PAT	12	54°32'30", 23° 24'52"	Nešienaujama pieva
15	Prienai	PRI	24	54° 37' 38", 23° 57'31"	Šienaujama pieva
16	Sudervė	SUD	24	54° 46' 51", 25° 4'15"	Nešienaujama pieva
17	Kernavė	KER	12	54° 53' 3", 24° 52' 29"	Pieva ant šlaito

Antrinės invazijos stadijos ir augavietės poveikio genetinei įvairovei tyrimas. Šiam tyrimui augalai buvo renkami pusiau natūraliose ir antropogenuose populiacijose. Daugiausiai augalų buvo surinkta Pietų ir Rytų Lietuvos regionuose įsikūrusiose populiacijose, ypač daug Vilniaus miesto ir jo apylinkių populiacijose (3 lentelė). Pastarosios augavietės buvo vienos pirmųjų, kuriose *E. annuus* aptiktas natūraliose ekosistemose (Mowszowicz, 1938; Gudžinskas, 1997).

3 LENTELE. *E. annuus* populiacijų iš pusiau natūralių ir antropogenuotų augaviečių apibūdinimas

Populiacijos kodas	N*	Koordinatės (ilg. R; plat. Š)	Augavietės tipas
Pusiau natūralios			
NJA	12	54°02'53", 26°13'26"	Apleista pieva
MRA	12	54°33'47", 23°18'57"	Šienaujama pieva
BEZ	12	54°47'07", 25°33'13"	Ganoma pieva
GEL	12	55°04'37", 22°51'30"	Miško pieva
VLNA	12	54°43'41", 25°15'01"	Šienaujama pieva
KEN	12	54°38'45", 25°38'31"	Dalinai šienaujama pieva
TAR	13	54°27'24", 23°07'03"	Apleista pieva
SVA	15	54°15'08", 24°33'31"	Šienaujama pieva
DRU	12	54°13'50", 24°26'51"	Šienaujama pieva
PAT	24	54°32'30", 23°24'52"	Apleista pieva
PRI	24	54°37'38", 23°57'31"	Šienaujama pieva
TRA	24	54°36'25", 24°46'50"	Šienaujama pieva
CEK	24	54°44'26", 25°05'37"	Apleista pieva
DUK	24	54°49'28", 24°58'25"	Apleista pieva
KERA	12	54°54'07", 24°50'44"	Šienaujama pieva
SUD	24	54°46'51", 25°04'15"	Apleista pieva
AUK	24	54°34'26", 24°30'40"	Apleista pieva
NEM	12	54°38'49", 25°21'28"	Apleista pieva
KLK	12	54°50'58", 25°09'17"	Šienaujama pieva
VLNF	14	54°42'36", 25°15'23"	Apleista pieva
JURA	12	55°04'52", 22°45'40"	Upės slėnio pieva
Antropogenuotos			
PGA	12	54°34'11", 25°12'14"	Neeksploatuojamos fermos teritorija
VLNB	30	54°39'57", 25°15'01"	Miesto teritorija
KAR	24	54°42'56", 24°57'45"	Uždarytas sąvartynas
PGS	24	54°34'56", 25°11'18"	Neeksploatuojamų šiltnamių teritorija
GAR	12	54°39'58", 25°09'13"	Teritorija netoli elektrinės
VLNC	24	54°40'19", 25°11'56"	Pakelė
MIC	24	54°42'31", 25°33'19"	Uždarytas sąvartynas
BEL	24	54°41'25", 25°20'54"	Uždarytas sąvartynas
VLND	12	54°42'37", 25°17'10"	Pakelė
GRI	24	54°40'22", 25°05'46"	Gamyklos teritorija/pakelė
UZK	24	54°37'08", 25°04'24"	Pakelė
VLNE	24	54°40'09", 25°13'26"	Neeksploatuojamų šiltnamių teritorija
MIN	24	54°38'46", 25°20'01"	Pakelė
VLNG	24	54°44'41", 25°13'59"	Uždarytas sąvartynas
JURB	24	55°04'52", 22°45'40"	Garažų teritorija
VLNH	24	54°40'23", 25°17'36"	Pakelė

*N – tirtų individų skaičius populiacijoje

Augalai iš pusiau natūralių augaviečių populiacijų buvo renkami sausose pievose ir ganyklose. Šių augaviečių tiesiogiai neteršia transportas ar kitokia tarša. Kai kurios pievos buvo periodiškai šienaujamos. Jų augalinė danga buvo beveik ištisa. Kita vertus, antropogeninis ekosistemų trikdymas žemės dirbimo, urbanizacijos ir statybų metu sukuria daug augaviečių, tinkamų *E. annuus* populiacijoms įsikurti. Šių pažeistų augaviečių populiacijos aptinkamos pakelėse, sąvartynuose, nebeekspluotuojamose ar uždarytuose sąvartynuose, statybvietėse. Tokiose antropogenizuotose augavietėse augalinė danga buvo neištisinė. Jose be vienmetės šiušelės buvo aptinkamos ir kitos ruderalinės bei pionierinės rūšys, tokios kaip *Conyza canadensis*, *Arctium lappa*, *Medicago lupulina*, *M. falcata*, *Cichorium intybus*, *Cirsium arvense*, *Artemisia vulgaris* ir kitos. *E. annuus* augalai tyrimams buvo surinkti 2012 metų vasarą. Individai buvo renkami atsitiktinai iš populiacijų, nutolusių viena nuo kitos mažiausiai keletą kilometrų. Tam, kad labiau atsispindėtų populiacijos įvairovė, augalai joje buvo renkami skirtingu atstumu. Mažiausias atstumas tarp rinktų augalų buvo 3 metrai.

***E. annuus* populiacijų alelopatinių savybių tyrimas.** Šiam tyrimui augalai buvo renkami 10-yje populiacijų (NJA, PAT, AUK, TRA, PRI, KERA, SUD, NEM, DUK, CEK), įsikūrusių pusiau natūraliose augavietėse ir 9-iose (KAR, BEL, VLNB, VLND, VLNE, VLNH, UZK, MIC, GRI) antropogenizuotose augavietėse (3 lentelė). Tyrimų medžiaga buvo surinkta 2013 metų birželio-liepos mėnesiais.

2. Tyrimų metodikos

2.1. Genominės DNR išskyrimas modifikuotu CTAB metodu

Genominė DNR buvo išskirta iš šviežių augalo lapų, naudojant modifikuotą CTAB metodą (Doyle ir Doyle, 1990). CTAB metodas yra vienas iš dažniausiai DNR skyrimui naudojamų metodų. CTAB (cetiltrimetilamonio bromidas) yra stiprus detergentas, ne tik suardantis ląstelių membranas, bet ir denatūruojantis baltymus bei atskiriantis juos nuo DNR. Be CTAB į ekstrakcijos buferio sudėtį įeina EDTA (etilendiamintetraacto rūgštis), kuri yra būtina nukleazų inhibavimui. Didelės NaCl koncentracijos buferyje pašalina polisacharidus. Polivinilpirolidonas absorbuoja polifenolius. β -merkoptoetanolis veikia kaip antioksidantas ir naudojamas DNR apsaugoti nuo polifenolių poveikio (Porebski ir kt., 1997) (4 lentelė).

4 LENTELĖ. DNR skyrimui naudotos cheminės medžiagos ir trumpas jų aprašymas

Medžiaga	Cheminė formulė	Gamintojas/šalis
EDTA	$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$	ROTH / Vokietija
TRIS	$C_4H_{11}NO_3$	ROTH / Vokietija
Natrio chloridas	NaCl	ROTH / Vokietija
CTAB	$CH_3(CH_2)_{15}N(CH_3)3Br$	ROTH / Vokietija
2 – merkaptoetanolis	C_2H_6OS	Sigma / Vokietija
Polivinilpirolidonas (PVP-40)	$(C_6H_9NO)_n$	Sigma / Vokietija
Chloroformas	$CHCl_3$	ROTH / Vokietija
Etilo alkoholis	C_2H_5OH	Vilniaus degtinė / Lietuva

1. Paruošiamas CTAB (cetiltrimetilamonio bromido) ekstrakcijos buferis. 10 ml šio buferio paruošti naudojama 0,4 ml 0,5M EDTA (pH 8,0), 1 ml 1M Tris (pH 8,0), 2,75 ml 5M NaCl, 2 ml 10% CTAB, 0,02 ml 2-merkaptoetanolio ir 100 mg PVP. Reagentai sudedami ir maišomi, kol ištirpsta polivinilpirolidonas. Po to įpilama dejonizuoto vandens iki 10 ml bendro buferio tūrio. Ekstrakcijos buferis išpilstomas į mėgintuvėlius, kiekvienam pavyzdžiui po 0,8 ml.
2. Pasveriamas 100-110 mg augalinės medžiagos. Ji užšaldoma skystu azotu, sutrinama iki miltelių ir suberiama į mėgintuvėlius su ekstrakcijos buferiu, į kurį įdedama ir 5 µl ribonukleazės A (10 mg/ml).
3. Mėgintuvėlių turinys gerai išmaišomas vartant, po to jie inkubuojami 25 min. +60 °C temperatūroje.
4. Po inkubacijos į atvėsusius mėginius įpilama 1 ml chloroformo, turinys išmaišomas ir centrifuguojama centrifugoje Eppendorf 5415R 3 min. 10000 aps./min.
5. Nucentrifuguotų mėginių viršutinė vandeninė fazė perkeliama į naują mėgintuvėlį. Dar kartą pilama 1 ml chloroformo ir vėl centrifuguojama 3 min. 10000 aps./min.
6. Nucentrifuguotų mėginių viršutinė vandeninė fazė perkeliama į naujus mėgintuvėlius, įpilama pusė tūrio NaCl ir du tūriai 95 % šalto etilo alkoholio.
7. Mėgintuvėlių turinys išmaišomas vartant, jie inkubuojami 20 min. +4 °C temperatūroje.
8. Atvėsinti mėginiai dedami į atšaldytą centrifugą ir centrifuguojami 5 min. 10000 aps./min.
9. Po centrifugavimo skystoji fazė atsargiai nupilama, DNR nuosėdos praplaunamos 0,2 ml šalto 70 % etilo alkoholio.

10. Mėginiai centrifuguojami 5 min. 10000 aps./min.
11. Po centrifugavimo skystoji fazė vėl atsargiai pašalinama, likučiai nusiurbiami pipete ir mėginiai paliekami džiūti steriliame bokse.
12. Išdžiovinta DNR ištirpinama 100 μl sterilaus dejonizuoto (18,3 Ω) vandens.

2.2. DNR koncentracijos ir kokybės nustatymas

DNR koncentracijos buvo matuojamos vienkartinėse kiuvetėse, naudojant „BioPhotometer“ (Eppendorf, Vokietija) biofotometrą. Taip pat buvo įvertinama DNR kokybė. Biofotometro pagalba nustatytas santykis A_{260}/A_{280} . Jis turi būti 1,7 – 1,9. Mažesnis santykis rodo, kad DNR mėginyje yra baltymų arba organinių medžiagų, didesnis – esama RNR. PGR (polimerazinei grandininei reakcijai) vykdyti buvo naudojama 5 ng/μl koncentracijos DNR.

2.3. ISSR-PGR vykdymas

Reakcijos mišinys (5 lentelė) ruošiamas laminarijame bokse prieš pat amplifikaciją. ISSR-PGR buvo naudojama 10 μl šio reakcijos mišinio: 10 ng DNR, 1 x *Taq* buferio su KCl, 0,4 μM pradmens, 200 μM dNTP, 300 μM MgCl₂, 0,5 dalies rekombinantinės *Taq* polimerazės (Thermo Fisher Scientific Baltics). Supylus visus reakcijos mišinio komponentus turinys išmaišomas, nucentrifuguojamas ir amplifikuojamas. Amplifikacija buvo vykdoma PeqSTAR termocikleryje šiomis sąlygomis: pradinė denatūracija truko 7 min. 94°C, toliau sekė 32 ciklai, kurių kiekvienas susideda iš 30 s 94 °C, 45 s 55 °C ir 120 s 72 °C temperatūroje ir pabaigoje 7 min. 72 °C temperatūroje.

5 LENTELĖ. ISSR-PGR reakcijos mišinio reagentų kiekiai vienam pavyzdžiui

Reagentas	Kiekis
10x <i>Taq</i> MgCl ₂ buferis	1 μl
dNTP (2 mM)	1 μl
MgCl ₂ (25 mM)	1,2 μl
Pradmuo (1 OV)	0,4 μl
<i>Taq</i> DNR polimerazė (5 u/μl)	0,08 μl
DNR (5 ng/μl)	2 μl
Dejonizuotas H ₂ O (18,3Ω)	4,32 μl
	10 μl

Tiriant *E. annuus* genetinę įvairovę, ISSR analizei buvo naudojami ISSR - O - 5'GAG(CAA)₅3', ISSR - B - 5'(AG)₈CG3', ISSR - C - 5'(AG)₈CG3', ISSR - D - 5'(AG)₈3', ISSR - G - 5'(GCC)₅3' pradmenys.

2.4. RAPD-PGR vykdymas

Kiekvienai 20 µl RAPD polimerazės grandininei reikcijai buvo naudojama 2 µl 10xPGR buferio, 200 µM dNTP, 1 u Taq polimerazės, 300 µM MgCl₂, 0,4 µM pradmens ir apytiksliai 20 ng DNR. RAPD-PGR pradinė denatūracija buvo vykdoma 4 min. 94 °C temperatūroje. Vėliau vyko 45 ciklai, kurių kiekvienas sudarytas iš denatūracijos (1 min. 94 °C), pradmenų prisijungimo (1 min. 35 °C), DNR sintezės (2 min. 72 °C). Pagausintų DNR fragmentų ilginimas vyko 5 min. 72 °C. RAPD analizei buvo naudojami A - 03 - 5'AGTCAGCCAC3', A - 04 - 5'AATCGGGCTG3', A - 05 - 5'AGGGGTCTTG3' ir A - 07 - 5'GAAACGGGTG3' pradmenys.

2.5. RAPD-PGR ir ISSR-PGR produktų tyrimas agarozės gelyje

Ruošiant agarozės gelį įpilama 20 ml 10xTBE buferio (500 ml šio buferio paruošti nedideliame kiekyje distiliuoto vandens ištirpinama 54,45 g TRIS (890 mM), 27,81 g boro rūgšties (890 mM), 4,65 g EDTA (20 mM), po to iki 500 ml pripilama distiliuoto vandens), agarozė, iki 200 ml įpilama distiliuoto vandens (6 lentelė). Mišinys kaitinamas mikrobangų krosnelėje, kol agarozė visiškai išsilydo. Atvėsinus įpilama etidžio bromido. Taip paruoštas agarozės tirpalas supilamas į gelio rėmelį su įstatytais šukomis ir paliekama sustingti. Geliui sustingus, išimamos šukos. PGR produktai paruošiami elektroforezei. Į mėgintuvėlius su PGR produktais įlašinami 0,25 tūrio 5x bromfenolio mėlio kiekvienam pavyzdžiui. Išmaišius, pavyzdžiai supilamai į agarozės gelio šulinėlius. Elektroforezė vykdoma 25'25 cm horizontalioje Roth elektroforezės kameroje (4 h, 4 V/cm), naudojant srovės šaltinį Electrophoresis Power Suply EPS 601 (Amersham Pharmacia Biotech Inc.). PGR produktų ilgiui nustatyti buvo naudojamas GeneRuler™ DNA Ladder Mix (Thermo Fisher Scientific Baltics, Lietuva) DNR fragmentų dydžio standartas. Elektroforezės rezultatai buvo registruojami naudojant gelių dokumentavimo sistemą BioDocAnalyze (Biometra, Vokietija).

6 LENTELĖ. 1,2 % agarozės gelio sudėtis

Reagentas	Kiekis
10 × TBE buferis	20 ml
Agarozė	2,4 g
Etidžio bromidas (5 mg/ml)	20 µl
Distiliuotas vanduo	iki 200 ml

2.6. Genetinių duomenų statistinė analizė

PGR reakcijos buvo pakartojamos 2–3 kartus. Analizuojami aiškūs, atsikartojantys DNR fragmentai (DNR juostos) ir jų profiliai. Kadangi *E. annuus* yra triploidas, o ISSR yra dominuojantieji žymenys, todėl neįmanoma nustatyti heterozigotinių alelių dažnį. Tokioje situacijoje tikrai 000 genotipas buvo laikomas kaip 0, o likusieji neatskiriami genotipai 111, 110 ir 100 buvo vertinami kaip 1. Kadangi dominuojančiųjų alelių dažniai poliploiduose negali būti vienareikšmiškai įvertinami, buvo vykdoma DNR juostų pasiskirstymu paremta ISSR duomenų analizė (Kloss ir kt., 2011). Naudojant POPGENE programą paskaičiuotas polimorfizmas, polimorfinių lokusų skaičius, Nei genų įvairovė, Šanon'o indeksas. Naudojant GenALEX v. 6.4 programą (Peakall ir Smouse, 2006) atlikta PCoA. Individų UPGMA dendrograma buvo nubraižyta naudojant TREECON programą. *E. annuus* populiacijų, įsikūrusių skirtingose augavietėse (antropogenizuotose ir pusiau natūraliose), genetinei diferenciacijai palyginti, remiantis ISSR analizės duomenimis, buvo naudojama AFLP-SURV v. 1.0 (Vekemans ir kt., 2002) kompiuterinė programa: buvo apskaičiuota tikėtinas heterozigotiškumas (H_j) pagal Lynch ir Milligan (1994), genetinė diferenciacija (F_{ST}) tarp populiacijų, tarp populiacijų augaviečių viduje ir tarp augaviečių, ir F_{ST} vertės tarp populiacijų porose (Lynch ir Milligan 1994). F_{ST} testui naudota 1000 permutacijų. Alelių gausumas lokuse (angl. *band richness* – Br), polimorfinių lokusų proporcija (PLP, 5% lygmenyje) buvo apskaičiuoti remiantis Petit ir kt. (1998) naudojant AFLPdiv v. 1.1 (Coart ir kt., 2005). AMOVA analizė (Excoffier ir kt., 1992) naudojant GenALEX 6.5 (Peakall ir Smouse, 2012) kompiuterių programą buvo naudojama ISSR spektrų variacijoms populiacijose augaviečių viduje ir tarp augaviečių įvertinti. Taip pat buvo apskaičiuota ir genetinė diferenciacija tarp augaviečių (Φ_{RT}) ir tarp populiacijų (Φ_{PT}). Φ_{PT} atitinka Wright'o (1965) fiksacijos indeksą (F_{ST}). Nustatant reikšmingumo lygmenį, kiekvienai analizei buvo taikyta 1000 permutacijų. Mano-

Whitnio U testas buvo naudojamas ir standartizuotam pavyzdžių bei populiacijų skaičiui. Šiuo atveju buvo analizuojama po 16 populiacijų (iš kiekvienos po 12 individų) iš abiejų tipų augaviečių. Vertinant populiacijų genotipinę įvairovę buvo nustatytas skirtingų genotipų santykis $t = G/N$, (G – genotipų skaičius, N – analizuojamų augalų skaičius) (Ellstrand ir Roose, 1987). Genotipinės įvairovės vienodumui įvertinti buvo taikomas vienodumo indeksas (E) paremtas Simpsono indeksu (Williams ir kt., 1964; Solé ir kt., 2004). Mano-Whitnio U testas su IBM® SPSS® Statistics v.23 kompiuterių programa buvo naudojama genotipinės įvairovės ir genetinės diferenciacijos (F_{ST}) skirtumų tarp augaviečių statistiniam patikimumui įvertinti. Norint nustatyti *E. annuus* genetiškai skirtingų grupių skaičių ir įvertinti, ar populiacijų grupavimasis į klasterius atitinka jų priklausomybę vieno ar kito tipo augavietei, buvo naudotas Bayeso grupavimosi algoritmas ir STRUCTURE v. 2.3.4 programa (Pritchard ir kt., 2000; Falush ir kt., 2007). 10 nepriklausomų paleidimų ($K = 1-20$) buvo vykdoma su 200 000 pakartojimų ir 200 000 MCMC. Rezultatai buvo apdorojami su STRUCTURE HARVESTER (Earl ir von Holdt, 2012) programa ir pavaizduoti naudojant DISTRUCT v1.1 programą (Rosenberg, 2004). Norint įvertinti, ar yra reikšminga koreliacija tarp populiacijų genetinių ir geografinių atstumų bei tarp skirtingų augaviečių populiacijų genetinių ir geografinių atstumų buvo atliekamas Mantelio testas naudojant GenAlEx v. 6.5 programą.

AFLPDiv (Coart ir kt., 2005) programa buvo įvertinta ir įvairių šalių populiacijų genetinė įvairovė, nustatytas Br rodiklis suvienodinto dydžio (12 individų) populiacijoms. Mantelio testas taip pat panaudotas įvertinti, ar yra koreliacija tarp skirtingų šalių populiacijų genetinių ir geografinių atstumų. Procedūra su 1000 pakartojimų atlikta naudojant GenAlEx v. 6.4 programą. Skirtumai tarp įvairių šalių *E. annuus* populiacijų genetinės įvairovės rodiklių buvo įvertinti naudojant ANOVA (IBM® SPSS® Statistics v. 22). Skirtingų šalių 17-os *E. annuus* populiacijų genetinė struktūra nustatyta naudojant STRUCTURE, v. 2.3.4, pritaikius Bayeso modeliu pagrįstą klasterių analizės algoritmą. Buvo naudojamas „admixture“ modelis (Falush ir kt., 2007). Norint nustatyti labiausiai tikėtiną klasterių skaičių procedūra atlikta K reikšmėms esant nuo 1 iki 20, kiekvieną analizę kartojant 10 kartų. MCML iteracijų skaičius procedūros metu buvo 50000, testo kartojimo periodas – 50000. DISTRUCT (Rosenberg, 2004) programa buvo naudojama STRUCTURE analizės rezultatams pavaizduoti.

2.7. *E. annuus* skirtingų augaviečių populiacijų augalų alelopatinių savybių įvertinimas

Augalų iš skirtingų augaviečių alelopatinėms savybėms tirti buvo naudojamos Csiszár (2009) ir Szabó (2000) aprašytos metodikos, pagal kurias buvo vertinamas *Sinapis alba* sėklų daigumas, šaknelių ir daigų ilgiui po poveikio tiriamų augalų ekstraktais ir apskaičiuojamas juglono indeksas I_j/x (Szabó, 2000):

$$I_j/x = (H_j + R_j + G_j) / (H_x + R_x + G_x),$$

H_j – vidutinis šaknų ilgis (cm) po poveikio 1 mM juglonu;

R_j – vidutinis stiebų ilgis (cm) po poveikio 1 mM juglonu;

G_j – vidutinis daigumas, veikiant 1 mM juglonu;

H_x – vidutinis šaknų ilgis (cm) po poveikio 1 g ar 5 g tiriamos medžiagos vandeniniais ekstraktais;

R_x – vidutinis stiebų ilgis (cm) po poveikio 1 g ar 5 g tiriamos medžiagos vandeniniais ekstraktais;

G_x – vidutinis daigumas, veikiant 1 g ar 5 g tiriamos medžiagos vandeniniais ekstraktais.

Augalinės medžiagos paruošimas analizei. Surinkti augalai buvo džiovinami kambario temperatūroje. Išdžiūvę lapai ir stiebai buvo susmulkinami ir ruošiami dviejų koncentracijų vandeniniai ekstraktai. 1 g ir 5 g sausos medžiagos buvo maišoma su 100 ml distiliuoto vandens ir inkubuojama 1 valandą +20 °C temperatūroje periodiškai maišant, po to ekstraktai buvo filtruojami. Į Petri lėkšteles su filtriniu popieriumi buvo berama po 100 *S. alba* sėklų ir užpilama po 5 ml mažesnės arba didesnės koncentracijos filtruoto augalų ekstrakto. Taip pat buvo paruoštos lėkštelės, kuriose *S. alba* sėklos buvo užpilamos 5 ml 1 mM juglono arba 5 ml distiliuoto vandens (kontrolė). Šie bandymai buvo atliekami trimis pakartojimais. Paruoštos Petri lėkštelės buvo inkubuojamos termostate +20 °C temperatūroje. Po šešių dienų buvo matuojamas šaknelių bei stiebelių ilgis ir apskaičiuojamas juglono indeksas.

Skirtingų augaviečių populiacijų augalų šaknelių bei stiebelių ilgių vidutinės vertės ir juglono indekso palyginimui buvo naudojamas Mano-Whitnio U testas. Statistinė analizė atlikta naudojant IBM® SPSS® Statistics v.23 for Windows kompiuterių programas.

2.8. *E. annuus* adaptacijos mechanizmo tyrimai atliekant bendro sklypo eksperimentus

Bendro sklypo eksperimentas. *E. annuus* dvylikos populiacijų augalų sėklos buvo pasėtos Botanikos ir genetikos katedros šiltnamyje. Buvo sėjamos 2012 metais surinktos sėklos iš Lietuvos (Narbuto gatvės, Pagirių, Marijampolės, Grigiškių, Akropolio), Lenkijos (Mragowo, Zeglarska, Szczuczyn), Šveicarijos (Sigirino, Locarno, Zürich) bei Kanados (New Brunswick) populiacijų. Daigai iš šiltnamio buvo perkelti į eksperimentinį sklypą VU Botanikos sode Vingio skyriuje. Eksperimentiniame sklype atsitiktine tvarka kiekvienos populiacijos augalai (po 50 individų) buvo sodinami eilėmis, kas 25 cm. Iš viso buvo pasodinta 600 augalų. Kas dešimt dienų buvo registruojamos šių augalų fenologinės vystymosi fazės bei matuojamas aukštis. Po trijų mėnesių buvo nurauti *E. annuus* dvylikos augintų populiacijų augalai ir atlikti jų morfometriniai matavimai: augalo bendras aukštis, svoris, stiebų skaičius, pagrindinio stiebo šakų skaičius, stiebo storis 40 cm aukštyje, lapo ilgis bei plotis ir graižo skersmuo. Į analizę neįtraukta Ciuricho populiacija, kadangi didžioji dalis jos augalų liko skrotelės stadijoje (nebuvo galima įvertinti tokių rodiklių kaip stiebų skaičius, stiebo storis, graižo skersmuo ir pan.). Morfometriniai matavimai buvo atlikami imant po 50 augalų iš kiekvienos populiacijos. Analogiškas eksperimentas atliktas ir 2014 metais.

2.9. Morfologinių rodiklių statistinė analizė

Panaudojant MS Excel programą buvo apskaičiuota morfometrinių rodiklių vidurkis, standartinė paklaida, nubraižytos histogramos. Skirtumo tarp dviejų populiacijų augalų morfometrinių rodiklių patikimumui įvertinti buvo naudojama PAST programa.

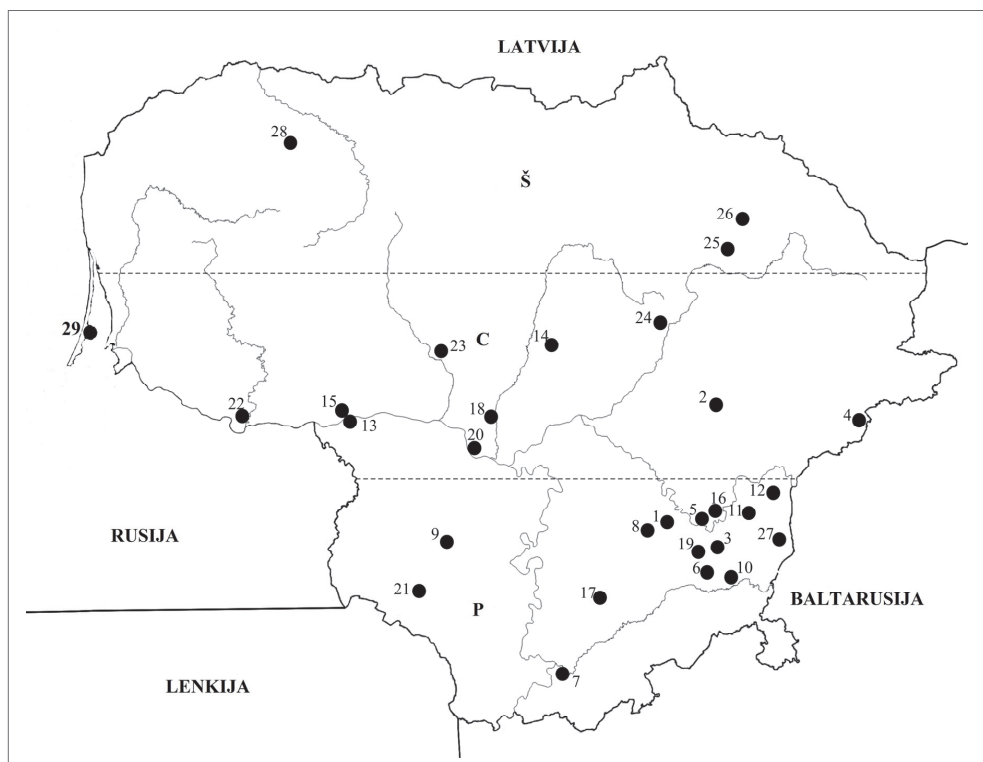
2.10. Tyrimo vietų dirvožemio cheminė sudėtis

Cheminių elementų (As, Ba, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sn, V, Zn) koncentracijos dirvožemyje buvo nustatomos rentgeno – fluorescencinės analizės metodu naudojant spektrometrą XEPOS SPECTRO (METEK, Vokietija). Tyrimai buvo atlikti GTC Geologijos ir Geografijos institute, Geoaplinkos tyrimų laboratorijoje. Tyrimo vietų sugrupavimui pagal nustatytas elementų koncentracijas buvo panaudota klasterinė analizė, kuri buvo atlikta Ward metodu naudojant euklidinius atstumus ir IBM® SPSS® Statistics v.23 for Windows programų paketą.

III. REZULTATAI

3.1. *E. annuus* invazinių Lietuvos populiacijų genetinės struktūros tyrimas

Atliekant *E. annuus* Lietuvos populiacijų genetinės struktūros tyrimus buvo ištirti 328 augalai iš 29-ių populiacijų (5 pav.).



5 PAV. Tirtos Lietuvos *E. annuus* populiacijos. Regionai: Š – šiaurinis; C – centrinis; P – pietinis. Populiacijos ir jų numeris: 1 – Užutrakis, 2 – Giedraičiai, 3 – Vilnius A, 4 – Naujasis Janavas, 5 – Vilnius B, 6 – Pagiriai, 7 – Roduka, 8 – Daniliškės, 9 – Marijampolė, 10 – Pagiriai B, 11 – Naujoji Vilnia, 12 – Bezdonys, 13 – Gelgaudiškis, 14 – Kėdainiai, 15 – Jurbarkas, 16 – Vilnius C, 17 – Lielius, 18 – Babtai, 19 – Vilnius D, 20 – Kulautuva, 21 – Kalvarija, 22 – Mikytai, 23 – Betygala, 24 – Kavarskas, 25 – Svėdasai, 27 – Kėna, 28 – Mažeikiai, 29 – Pervalka

RAPD analizėje buvo naudojami keturi (A-03, A-04, A-05 ir A-07) pradmenys, o ISSR analizėje – penki (ISSR-O, ISSR-B, ISSR-C, ISSR-D, ISSR-G). Su šiais pradmenimis buvo pagausinta iš viso 113 RAPD lokusų ir 156 ISSR lokusai. RAPD metodu buvo nustatyta 14 polimorfinių populiacijų, o ISSR – 15 (7 lentelė). Vilnius C populiacijoje RAPD metodu nustatyti genetinės įvairovės rodikliai (Nei genų įvairovė– h , Shannon'o indeksas – I , polimorfinių lokusų procentas – P (%), Nei ir Li (1979) genetinis atstumas – Gd_{xy}) buvo 0, o naudojant ISSR metodą šie rodikliai atitinkamai buvo – 0,03; 0,04; 10,43; 0,01 (7 lentelė). Visos kitos populiacijos buvo monomorfinės.

Iš 328-ių vienmetės šiušelės augalų tik 18 turėjo unikalius molekulinis fenotipus. Labiausiai paplitusį kloną sudarė 88 genetiškai vienodi individai. Genetinių atstumų tarp populiacijų rezultatai, gauti RAPD metodu, reikšmingai koreliavo su genetiniais atstumais, gautais naudojant ISSR analizės duomenis ($r = 0,91$, $p < 0,05$).

3.1.1. Genetinė įvairovė populiacijų viduje

Remiantis gautais DNR polimorfizmo tyrimo rezultatais, visas ištirtas *E. annuus* populiacijas galima padalinti į dvi grupes. Beveik pusė jų (remiantis RAPD duomenimis – 48,3 %; ISSR – 51,7 %) buvo polimorfines. Naudojant abu žymenis genotipų skaičius šios grupės populiacijose varijavo nuo 2 iki 4 (8 lentelė). Išimtis – Vilnius C populiacija, kurioje RAPD metodu buvo nustatytas vienas genotipas. Didžiausias genotipų skaičius (4) naudojant abu metodus nustatytas Daniliškių ir Kenos populiacijose. Vertinant populiacijų polimorfinių lokusų nuošimtį didžiausi skirtumai nustatyti tarp pietinės Lietuvos dalies populiacijų (pietinis regionas). Palyginti mažas DNR polimorfizmas buvo nustatytas Bezdonių ($P_{ISSR} = 24,35$ %; $P_{RAPD} = 34,29$ %) ir Lieliaus ($P_{RAPD} = 25,71$ %; $P_{ISSR} = 42,61$ %) populiacijose (7 lentelė). Didžiausias polimorfizmas buvo nustatytas dvejose populiacijose – Daniliškių ($P_{RAPD} = 70,00$ %; $P_{ISSR} = 69,57$ %) ir Kenos ($P_{RAPD} = 78,57$ %; $P_{ISSR} = 62,61$ %). Beveik pusės polimorfinių populiacijų (Vilniaus B, Daniliškių, Marijampolės, Kalvarijos (pietinis regionas) ir Giedraičių, Pervalkos (centrinis regionas) genetinės įvairovės rodikliai visiškai ar beveik visiškai sutapo naudojant tiek RAPD, tiek ISSR žymenis. Tačiau Užutrakio, Lieliaus, Vilniaus C, Gelgaudiškio, Kėdainių ir Mikytų populiacijų genetinės įvairovės rodikliai nustatyti šiais metodais skyrėsi. Be to, kai kuriose jų (Užutrakio, Kėdainių, Mikytų) didesnis polimorfizmas nustatytas naudojant RAPD žymenis, o kitose trejose (Vilniaus C, Lieliaus, Gelgaudiškio) – ISSR.

7 LENTEĻĒ. *E. ammus* polimorfnių populiacijų vidupopuliacinė genetinė įvairovė

Populiacija	Populiacijos Nr.	h ¹				I ²				P (%) ³				Gdxy ⁴
		RAPD	ISSR	RAPD	ISSR	RAPD	ISSR	RAPD	ISSR	RAPD	ISSR	RAPD	ISSR	
Pietinis regionas														
Užutrakis	1	0,25	0,16	0,36	0,23	61,43	39,13	0,38	0,18					
Vilnius B	5	0,25	0,25	0,37	0,36	61,43	59,13	0,23	0,3					
Daniliškės	8	0,25	0,25	0,37	0,37	70	69,57	0,19	0,2					
Marijampolė	9	0,24	0,24	0,36	0,34	60	56,52	0,20	0,21					
Bezdonys	12	0,09	0,07	0,15	0,11	34,29	24,35	0,04	0,05					
Vilnius C	16	0	0,03	0	0,04	0	10,43	0	0,01					
Lieliūs	17	0,1	0,16	0,15	0,23	25,71	42,61	0,04	0,11					
Kalvarija	21	0,25	0,23	0,37	0,34	61,43	55,65	0,32	0,26					
Kena	27	0,29	0,29	0,43	0,33	78,57	62,61	0,26	0,19					
Vidurkis		0,19 ± 0,19	0,18 ± 0,06	0,28 ± 0,12	0,26 ± 0,09	50,32 ± 20,21	46,67 ± 14,03	0,18 ± 0,11	0,17 ± 0,07					
Centrinis regionas														
Gelgaudiškis	2	0,11	0,15	0,17	0,23	35,71	52,17	0,04	0,09					
Giedraičiai	13	0,24	0,21	0,35	0,31	60	57,39	0,20	0,18					
Kėdainiai	14	0,25	0,14	0,36	0,21	62,86	36,52	0,24	0,11					
Jurbarkas	15	0,13	0,09	0,19	0,15	44,29	33,91	0,07	0,05					
Milkytai	22	0,21	0,15	0,3	0,22	52,86	38,26	0,21	0,15					
Pervalka	29	0,19	0,20	0,28	0,29	45,71	46,96	0,20	0,26					
Vidurkis		0,19 ± 0,05	0,16 ± 0,03	0,28 ± 0,06	0,23 ± 0,04	50,24 ± 8,34	44,20 ± 7,97	0,16 ± 0,07	0,14 ± 0,05					
Visos polimorfines populiacijos														
Bendras vidurkis		0,19 ± 0,07	0,17 ± 0,07	0,28 ± 0,10	0,25 ± 0,08	50,29 ± 15,47	45,68 ± 12,61	0,18 ± 0,09	0,16 ± 0,07					

¹ h – Nei (1973) genų įvairovė; ² I – Shannon'o indekso vertė; ³ P – polimorfinių lokusų procentas; ⁴ Gdxy – Nei ir Li (1979) genetinis atstumas.

8 LENTELĖ. *E. annuus* polimorfinių populiacijų genotipų skaičius, nustatytas naudojant RAPD ir ISSR žymenis

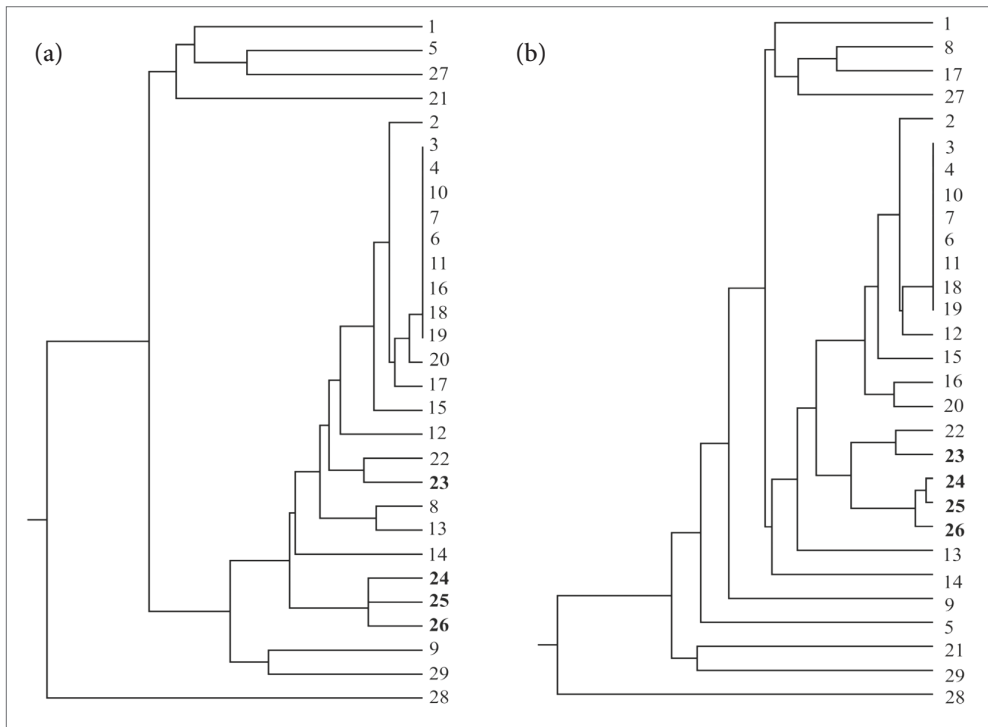
Populiacija	Pavyzdžių skaičius	Genotipų skaičius	
		RAPD	ISSR
Pietinis regionas			
Užutrakis	12	2	3
Vilnius B	12	2	2
Daniliškės	12	4	4
Marijampolė	12	2	2
Bezdonys	12	2	2
Vilnius C	12	1	2
Lielius	12	2	2
Kalvarija	12	2	2
Kena	12	4	4
Centrinis regionas			
Giedraičiai	12	2	2
Gelgaudiškis	12	4	3
Kėdainiai	12	2	2
Jurbarkas	12	2	2
Mikytai	5	2	2
Pervalka	12	2	2

Tyrimų metu vienmetė šiušėlė buvo reta Lietuvos šiaurėje (5 pav.). Mūsų darbe buvo tiriamos tik trys šio regiono populiacijos – Svėdasų (Nr. 25), Kamajų (Nr. 26), Mažeikių (Nr. 28). Visos šios populiacijos buvo monomorfinės. Svėdasų ir Kamajų populiacijų pavyzdžiai buvo renkami senose kapinėse. Betygalos (Nr. 23) ir Kavarsko (Nr. 24) (centrinis regionas) kapinių populiacijos irgi buvo monomorfinės. Įdomu tai, kad UPGMA analizės duomenys, pateikti šeštame paveiksle, rodo kapinių trijų monomorfinių populiacijų (Kavarsko, Svėdasų, Kamajų) artimą genetinę giminingumą (6 pav).

Tyrimams renkant *E. annuus* augalus, jų populiacijos dažnesnės buvo centrinia-me ir pietiniame regionuose palyginti su šiauriniu (5 pav.).

Palyginus populiacijų iš Lietuvos regionų (pietinio ir centrinio), kuriuose jos sutinkamos dažniausiai, genetinės įvairovės rodiklius nustatyta, kad tarp jų yra tiek monomorfinių, tiek polimorfinių. Tačiau visos populiacijos buvo polimorfines vakarų kryptimi: Gelgaudiškis (Nr. 13), Jurbarkas (Nr. 15), Mikytai (Nr. 22), Pervalka (Nr. 29). Abiejų regionų populiacijų genetinės įvairovės lygis buvo panašus (7 lentelė). Centrinio regiono populiacijų vidutinis polimorfizmas buvo 50,24 % remiantis

RAPD analizės rezultatais ir 44,20 % – ISSR; pietinio – 50,32 % remiantis RAPD, 46,67 % – ISSR. Nei genų įvairovė buvo beveik identiška abiejų regionų populiacijose: centrinio regiono populiacijų genetinė įvairovė buvo 0,19 naudojant RAPD metodą, 0,16 – naudojant ISSR. Pietų regiono populiacijų RAPD žymenų įvairovė sudarė 0,19, ISSR – 0,18. Ta pati tendencija išlieka ir Shannon'o indeksui: centrinio regiono populiacijose jo vertės atitinkamai buvo 0,28 ir 0,23, o pietinio – 0,28 ir 0,26 (7 lentelė).



6 PAV. *E. annuus* 29-ių populiacijų UPGMA dendrograma, gauta remiantis (a) RAPD duomenimis, (b) – ISSR. Skaičiai – populiacijų, pateiktų 5-me paveiksle, numeriai

Ankstesnių tyrimų duomenimis (Gudžinskas, 1997), vakarinėje Lietuvos dalyje vienmetė šiušėlė neaugo. Renkant medžiagą tyrimams, buvo atrasta viena vieta, kurioje augo *E. annuus* augalai. Tai pieva netoli autobusų stotelės Pervalkoje. Galima manyti, kad Pervalkos populiacija, yra nauja *E. annuus* plitimo vieta Lietuvoje. Šioje populiacijoje buvo nustatyta gana didelė genetinė įvairovė ir gauti šie genetinės įvairovės rodikliai: naudojant RAPD metodą $P = 45,71 \%$, $h = 0,19$, $I = 0,28$, ISSR – $P = 46,96 \%$, $h = 0,20$, $I = 0,29$ (7 lentelė). UPGMA dendrogramoje, gautoje naudojant

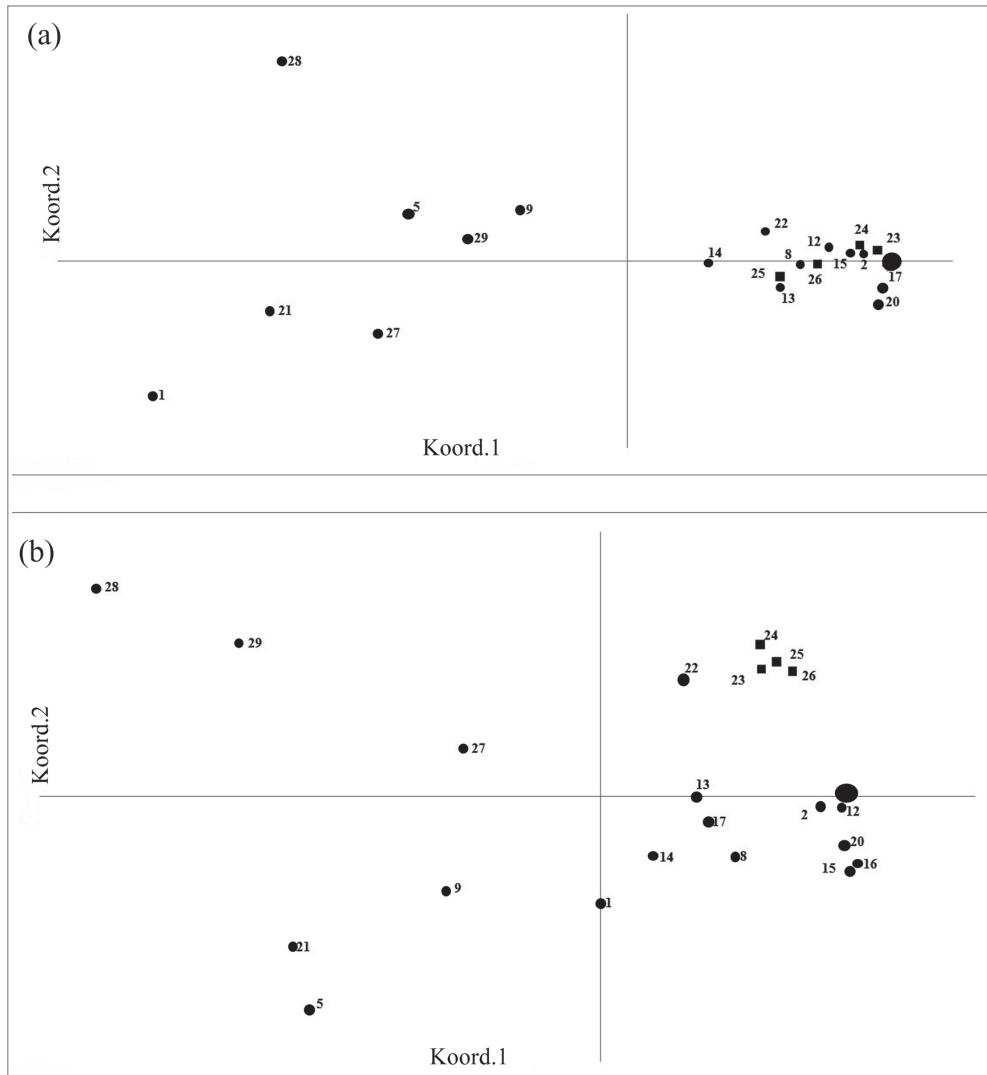
RAPD duomenis, Pervalkos populiacija (Nr. 29) genetiškai artima Marijampolės (Nr. 9) populiacijai (6 pav.). Galima manyti, kad Pervalkos populiacija yra kilusi iš Marijampolės populiacijos, nes, kaip rodo 6-tame paveiksle pateikti duomenys, šios populiacijos yra artimai giminingos. Be to, Marijampolės populiacijos genetinė įvairovė yra didesnė (RAPD žymenų atveju $P = 60\%$, $h = 0,24$, $I = 0,36$; ISSR – $P = 56,52\%$, $h = 0,24$, $I = 0,34$) palyginti su Pervalkos (7 lentelė).

Į monomorfinių populiacijų grupę pateko Betygalos (Nr. 23), Kavarsko (Nr. 24), Svėdasų (Nr. 25), Kamajų (Nr. 26) (pastarųjų keturių populiacijų individai augo kapinėse), taip pat Vilniaus A (Nr. 3), Pagirių A (Nr. 6), Rodukos (Nr. 7), Pagirių B (Nr. 10), Naujosios Vilnios (Nr. 11), Vilniaus D (Nr. 19), Naujojo Janavo (Nr. 4), Babtų (Nr. 18), Kulautuvos (Nr. 20) ir Mažeikių (Nr. 28) populiacijos. Šioje populiacijų grupėje didelę dalį sudarė augalai iš Vilniaus ir jo apylinkių. Savitumu pasižymėjo Vilniaus C (Nr. 16) populiacija, kuri RAPD analizės duomenimis yra monomorfinė, o ISSR – polimorfinė, kadangi polimorfiniai lokusai sudarė 10,43 % (7 lentelė).

3.1.2. Genetiniai ryšiai tarp populiacijų

UPMGA dendrogramos, gautos naudojant RAPD ir ISSR duomenis, parodė, jog labiausiai paplitęs (pagrindinis) *E. annuus* genotipas yra devyniose populiacijose: Vilniaus A (Nr. 3), Naujojo Janavo (Nr. 4), Pagirių A (Nr. 6), Pagirių B (Nr. 10), Rodukos (Nr. 7), Naujosios Vilnios (Nr. 11), Vilniaus C (Nr. 16), Babtų (Nr. 18), Vilniaus D (Nr. 19) (6 pav.). Jis ypač išplitęs Vilniaus miesto bei jo apylinkių populiacijose. Dvi šio klonų populiacijos (Roduka ir Babtai) buvo aptiktos 90 km ir 130 km atstumu nuo Vilniaus. Palyginus UPGMA dendrogramas, nubraižytas naudojant RAPD ir ISSR duomenis, matyti, kad labiausiai paplitusio klonų atžvilgiu jos yra labai panašios. Atlikus tirtų populiacijų genetinės įvairovės, nustatytos RAPD metodu, principinių koordinacinių analizę, buvo nustatytas pagrindinio klonų giminingumas su kapinių populiacijomis: Betygalos (Nr. 23), Kavarsko (Nr. 24), Svėdasų (Nr. 25), Kamajų (Nr. 26) ir dar keliomis, gamtinėse ekosistemose įsikūrusiomis, populiacijomis: Giedraičių (Nr. 2), Daniliškių (Nr. 8), Bezdonių (Nr. 12), Gelgaudiškio (Nr. 13), Kėdainių (Nr. 14), Jurbarko (Nr. 15), Lieliaus (Nr. 17), Kulautuvos (Nr. 20), Mikytų (Nr. 22) (7 pav., a). Tačiau išanalizavus ISSR analizės duomenis PCoA metodu, stebimas labiau išsklaidytas šių populiacijų grupavimas dviejų koordinacinių sistemoje (7 pav., b). Abiem paveiksle pateiktais PCoA atvejais matoma 7-ių populiacijų grupė – Užutrakis

(1), Vilnius B (Nr. 5), Marijampolė (Nr. 9), Kalvarija (Nr. 21), Kena (Nr. 27), Mažeikiai (Nr. 28), Pervalka (Nr. 29), kuri genetiškai nutolusi nuo populiacijų, daugiau ar mažiau susijusių su pagrindiniu klonu. Visos šios septynios populiacijos, išskyrus Mažeikių, yra polimorfinės.



7 PAV. *E. annuus* 29 populiacijų genetinės įvairovės principinių koordinacių analizė, atlikta naudojant Nei (1979) genetinių atstumų tarp 328 individų matricą. Genetiniai atstumai apskaičiuoti panaudojus a) 117 RAPD žymenų, b) 161 ISSR žymenų. Labiausiai paplitęs klonas pažymėtas didesniu juodu skrituliu. Kapinių populiacijos pavaizduotos juodais kvadratais.

3.1.3. Genetinės įvairovės pasiskirstymas populiacijose

Naudojant RAPD duomenis, AMOVA parodė, kad genetinė diferenciacija tarp populiacijų yra 45 %, o populiacijų viduje – 47 % (9 lentelė). ISSR analizės duomenimis genetinė diferenciacija tarp populiacijų yra 55 %, populiacijų viduje – 40 %.

9 LENTELE. *E. annuus* 29-ių populiacijų molekulinė genetinė įvairovė (AMOVA), nustatyta naudojant RAPD ir ISSR žymenis

Variacijos lygmuo	¹ df	² SS	³ MS	Variacijos komponentas	⁴ %	⁵ Φ stat.
Naudojant RAPD žymenis						
Tarp regionų	2	203,57	101,78	0,62	8	Φ_{RT} 0,08
Tarp populiacijų	26	1108,90	42,65	3,46	45	Φ_{PR} 0,49
Populiacijų viduje	299	1093,68	3,66	3,66	47	Φ_{PT} 0,53
Iš viso	327	2406,15		7,74	100	
Naudojant ISSR žymenis						
Tarp regionų	2	318,03	159,02	0,73	5	Φ_{RT} 0,06
Tarp populiacijų	26	2278,43	87,63	7,31	55	Φ_{PR} 0,58
Populiacijų viduje	299	1574,62	5,26	5,27	40	Φ_{PT} 0,60
Iš viso	327	4171,07		13,31	100	

$p < 0.01$; ¹df – laisvės laipsniai; ²SS – kvadratų suma; ³MS – kvadratų vidurkis; ⁴% – genetinės įvairovės nuošimtis, tenkantis kiekvienam komponentui; ⁵ Φ stat. – Φ statistika (Wright, 1950)

Genetinės diferenciacijos koeficientas (G_{ST}), RAPD analizės duomenimis yra 0,58, o ISSR – 0,64 (10 lentelė). Genetiniai atstumai tarp populiacijų, nustatyti RAPD ir ISSR metodais, buvo panašūs. Vidutinis genetinis atstumas tarp populiacijų, nustatytas naudojant RAPD žymenis yra 0,18, naudojant ISSR – 0,21. Didžiausias genetinis atstumas buvo nustatytas tarp Mažeikių ir Užutrakio populiacijų (pagal RAPD rezultatus – 0,62, pagal ISSR – 0,56). Mantel'io testas parodė silpną koreliaciją tarp genolinių ir geografinių atstumų (RAPD duomenimis $r = 0,276$, $p < 0,05$; ISSR – $r = 0,344$, $p < 0,05$).

10 LENTELE. Tarppopuliacinės genetinės įvairovės rodikliai, gauti naudojant RAPD ir ISSR žymenis

Genetinės įvairovės rodikliai	Žymenis	
	RAPD	ISSR
G_{ST}	0,58	0,64
Nm	0,36	0,28
GD _{pop}	0,18 ± 0,13	0,21 ± 0,12
GD _{pop max}	0,62	0,56
GD _{pop min}	0	0

G_{ST} – genetinės diferenciacijos koeficientas, Nm – genų srautas tarp populiacijų, GD_{pop} – vidutinis genetinis atstumas tarp populiacijų, GD_{pop max} – didžiausias genetinis atstumas tarp Mažeikių ir Užutrakio populiacijų, GD_{pop min} – mažiausias atstumas tarp populiacijų

3.2. *E. annuus* populiacijų genetinės įvairovės gradientas Europos invazinio rūšies arealo dalyje

Žinoma, jog kai kurių invazinių rūšių plitimas sukuria genetinės įvairovės gradientą (Austerlitz ir kt. 1997). Invazinių rūšių, patekusių į naują regioną, genetinė įvairovė gali sumažėti dėl pradininko efekto sąlygojamo genų dreifo (Nei ir kt., 1975; Kelager ir kt., 2013). Ilgėjant laikui, kurį invazinės rūšies augalai auga naujoje teritorijoje, genetinė įvairovė gali padidėti dėl pakartotinės introdukcijos, skirtingos kilmės individų kryžminimosi, genetinės rekombinacijos ir kitų priežasčių (Bossdorf ir kt., 2005; Gaudeul ir kt., 2011). Norėdami nustatyti, ar egzistuoja geninės įvairovės skirtumai tarp seniau ir naujai įsikūrusių vienmetės šiušlės populiacijų, ISSR metodu ištyrėme 253 *E. annuus* augalus iš 17-os Šveicarijos, Lenkijos, Latvijos, Kanados ir Lietuvos populiacijų. Buvo nustatyta iš viso 161 ISSR lokusas. Vidutiniškai buvo pagausinta 72,4 lokuso vienam individui. Šių DNR fragmentų dydis buvo nuo 300 bp iki 1500 bp, vidutinis lokuso dydis – 781 bp. Nustatytų lokusų skaičius tirtose skirtingų šalių populiacijose skyrėsi. Didžiausias vidutinis lokusų skaičius ($116 \pm 1,3$) buvo Šveicarijos populiacijose (11 lentelė), iš kurių Locarno populiacijoje jis buvo mažiausias – 113, Sigirino populiacijoje didžiausias – 119. Lenkijos populiacijose nustatytų lokusų skaičius labai skyrėsi: Lublino A populiacijoje didžiausias – 134, monomorfinėje Szczuczyn'o populiacijoje buvo mažiausias – 79. Vidutinis lokusų skaičius tirtose Lenkijos populiacijose buvo $104,8 \pm 8,1$. Abi tirtos Latvijos populiacijos buvo monomorfinės. Jose nustatyti 82 lokusai. Vidutinis lokusų skaičius Lietuvos populiacijose buvo $90 \pm 5,1$. Taip pat buvo tirta viena natyvi New Brunswicko populiacija iš Kanados. Joje pagausinti 95 polimorfiniai lokusai.

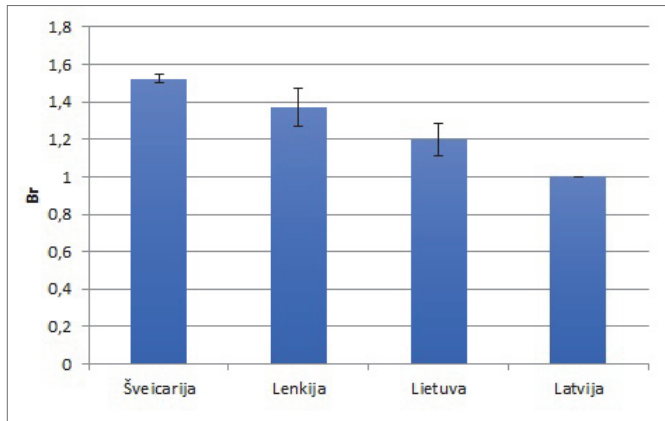
Taip pat skyrėsi ir genotipų skaičius tirtose populiacijose. Keturios populiacijos (Szczuczyn, Daugavpils A, Daugavpils B ir Patašinė) buvo monomorfinės. Didžiausias genotipų skaičius buvo nustatytas Šveicarijos populiacijose, tarp kurių Züričo populiacijoje jis buvo mažiausias – 5, o Locarno didžiausias – 11. Daugiausia to paties genotipo augalų (37) buvo Daugavpils populiacijose. Šveicarijos populiacijose buvo didžiausias ir unikalių genotipų skaičius – 16.

11 LENTELĒ. *E. amnūs* 17-os populāciju ģenētiskās ievairoves rodikliem gauti naudojant ISSR zīmeņus

Populācija	Populācijas kods	Lokusu skaits	Ģenotipu skaits	Unikāliju ģenotipu skaits	Br [12]	h	I
ŠVEICARĪJA							
Locarno	LOC	113	11	8	1,512	0,185	0,279
Sigirino	SIG	119	6	3	1,553	0,184	0,280
San Antonio	SAN	117	7	3	1,565	0,187	0,283
Zürich	ZÜR	115	5	2	1,460	0,155	0,233
Vidurkis ± SE		116,0 ± 1,3	7	4	1,523 ± 0,024	0,178 ± 0,008	0,269 ± 0,012
LENKIJA							
Lublin A	LUA	134	4	0	1,683	0,229	0,349
Szczuczyn	SZC	79	1	0	1,000	0	0
Mragowo	MRA	116	4	0	1,522	0,174	0,264
Suwalki	SUW	102	4	2	1,416	0,151	0,223
Lublin B	LUB	110	4	0	1,422	0,149	0,224
Swieta Lipka	SWI	88	2	0	1,174	0,059	0,089
Vidurkis ± SE		104,8 ± 8,1	3	0	1,370 ± 0,100	0,127 ± 0,034	0,192 ± 0,051
LATVIJA							
Daugavpils A	DAA	82	1	0	1,000	0	0
Daugavpils B	DAB	82	1	0	1,000	0	0
Vidurkis		82	1	0	1,000	0	0
KANADA							
New Brunswick	NEW	95	4	1	1,391	0,132	0,199
Vidurkis		95	4	1	1,391	0,132	0,199
LIETUVA							
Patašinė	PAT	76	1	0	1,000	0	0
Prienai	PRI	90	2	0	1,118	0,037	0,059
Sudervė	SUD	100	5	2	1,318	0,100	0,157
Kernavė	KER	94	2	1	1,360	0,098	0,153
Vidurkis ± SE		90,0 ± 5,1	3	1	1,199 ± 0,085	0,059 ± 0,024	0,092 ± 0,038

Br [12] – aleļu ģausumas lokuse, kai tiriamos populācijas dydis yra 12 - a. AFLPdiv v. 1.1 programos atsiktinai išrinkti, individų; h – Nei ģenų ievairovė (tikėtinas heterozigotiškumas); I – Shannoņa indeksas vertė

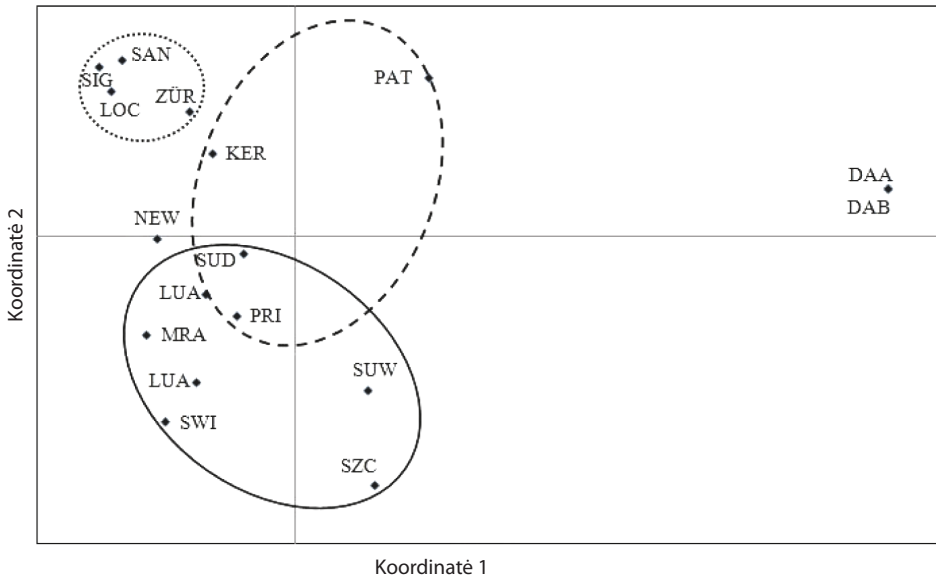
Genetinės įvairovės rodikliai (Br, h ir I) polimorfinėse populiacijose kito atitinkamai nuo 1,118 iki 1,683, nuo 0,037 iki 0,229 ir nuo 0,059 iki 0,349 (11 lentelė). Didžiausias vidutinis alelių gausumas lokuse (Br) buvo Šveicarijos populiacijose, mažiausias – Lietuvos ir Latvijos (atitinkamai $1,523 \pm 0,024$, $1,199 \pm 0,085$ ir 1,0) (8 pav.).



8 PAV. Vidutinis alelių gausumas lokuse (Br) *E. annuus* Šveicarijos, Lenkijos, Lietuvos, Latvijos populiacijose

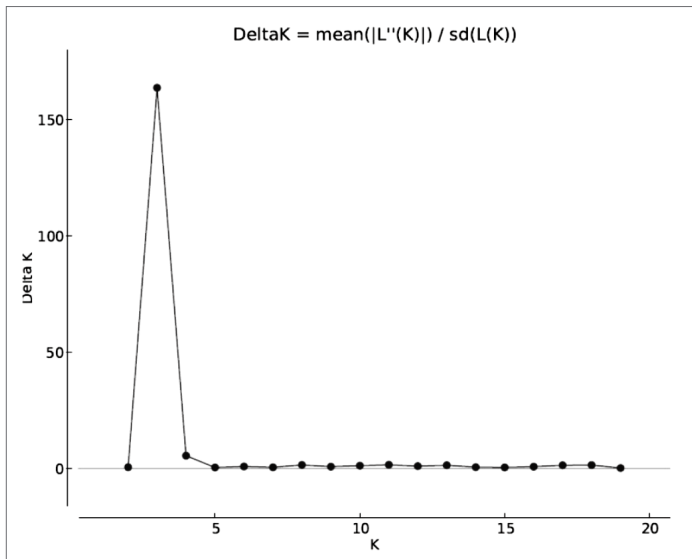
Didžiausia vidutinė Nei genų įvairovės ir Shannon'o indekso vertė nustatyta taip pat Šveicarijos populiacijose (atitinkamai $0,178 \pm 0,008$ ir $0,269 \pm 0,012$), mažiausia (atitinkamai $0,059 \pm 0,024$ ir $0,092 \pm 0,038$) – Lietuvos populiacijose. Latvijos populiacijos, kaip monomorfinės, turėjo tik vieną alelį lokuse (Br = 1,0; h = 0; I = 0).

Atlikus Mantel'io testą buvo nustatyta reikšminga koreliacija tarp genetinių ir geografinių atstumų ($r = 0,261$; $p = 0,03$). Tiesa, tik tuo atveju, kai į analizę nebuvo įtraukiamos Latvijos ir Kanados populiacijos. Palyginus skirtingų šalių populiacijų alelių gausumą lokuse, jis reikšmingai skyrėsi (ANOVA, $p = 0,044$). Panaudojus genetinių atstumų tarp 253-jų tirtų individų reikšmes, buvo atlikta PCoA analizė (9 pav.). Trys koordinacių ašys aprašo didžiąją tirtų populiacijų genetinės įvairovės dalį: pirmoji ašis – 24,34 %, antroji – 21,70 %, trečioji – 17,53 %. PCoA diagramoje Šveicarijos populiacijos (LOC, SIG, SAN, ZÜR) suformavo kompaktišką grupę. Lenkijos populiacijos (LUA, SZC, MRA, SUW, LUB, SWI) taip pat grupavosi. Dvi Lietuvos populiacijos – Prienuų (PRI) ir Sudervės (SUD) yra artimos Lenkijos populiacijoms, kitos dvi – Patašinės (PAT) ir ypač Kernavės (KER), grupavosi su Šveicarijos populiacijomis. Monomorfinės Latvijos populiacijos (DAA, DAB) buvo išsidėsčiusios atskirai nuo visų populiacijų.

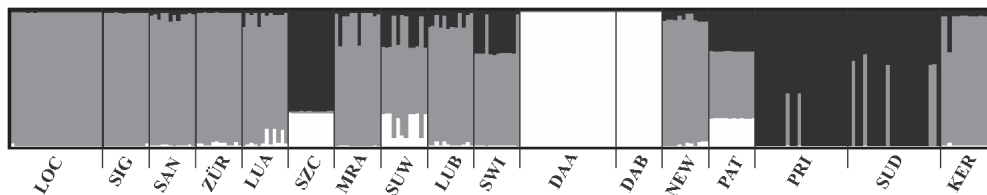


9 PAV. *E. annuus* 17 populiacijų principinių koordinačių analizė, atlikta naudojant Nei (1979) genetinių atstumų tarp 253 individų matricą. Genetiniai atstumai apskaičiuoti panaudojus 161 ISSR žymenį. Populiacijų kodai pateikti 11- oje lentelėje.

STRUCTURE programa atliktoje analizėje didžiausia ΔK vertė buvo, kai $K = 3$ (10 pav.). Vienuoliktame paveiksle pateikti šios analizės rezultatai, kurie rodo tris klasterius (pavaizduoti balta, juoda ir pilka spalvomis). Populiacijų išsidėstymas tarp klasterių nerodė aiškaus susiskirstymo pagal geografinę populiacijų padėtį, tačiau, vis dėlto, matyti keli regionų skirtumai. Didžioji dalis individų iš Locarno (LOC), Sigi-rino (SIG), San Antonio (SAN), Zürich (ZÜR), Lublin A (LUA), Mragowo (MRA), Lublin B (LUB), New Brunswick (NEW), Kernavės (KER) populiacijų priklausė pilkos spalvos klasteriui. Visi Latvijos populiacijų individai išsidėstė baltos spalvos klas-teryje. Didžioji dalis Prienų (PRI) ir Sudervės (SUD) populiacijų individų grupavosi juodame klasteryje. Szczucyn (SZC), Suwalki (SUW), Swieta Lipka (SWI) ir Pata-šinės (PAT) populiacijos genetiškai buvo mišrios ir nepriklausė nė vienam iš minėtų klasterių. Vienintelė Kanados New Brunswick (NEW) populiacija iš natyvaus arealo buvo priskirta pilka spalva pažymėtam klasteriui. Visos Šveicarijos populiacijos taip pat priklausė pilkam klasteriui ir buvo genetiškai homogeniškos. Tačiau Lenkijos ir Lietuvos populiacijos, skirtingai nuo Šveicarijos, buvo genetiškai heterogeniškos. Monokloninės Latvijos populiacijos susigrupavo į nedidelį baltai pažymėtą klasterį.



10 PAV. Evanno ir kt. (2005) grafinio metodo teisingam klasterių (K) skaičiui nustatyti, naudojant STRUCTURE analizės duomenis, rezultatai. ΔK pikas stebimas, kai $K = 3$.



11 PAV. *E. annuus* 17-os populiacijų Bayeso analizės vaizdinė išraiška, naudojant STRCTURE, kai $K=3$. Plona vertikali juostelė – atskiras individas. Populiacijos atskirtos juodomis linijomis. LOC-ZÜR – Šveicarijos populiacijos, LUA-SWI – Lenkijos, DAA ir DAB – Latvijos populiacijos, NEW – Kanados, PAT-KER – Lietuvos. Populiacijų kodai pateikti 11-oje lentelėje

3.3. *E. annuus* populiacijų, įsikūrusių pusiau natūraliose ir antropogenuose augavietėse, genetinės ir genotipinės įvairovės bei alelopatinio potencialo palyginimas

3.3.1. Genetinės ir genotipinės įvairovės palyginimas

37-iose *E. annuus* populiacijose ISSR metodu buvo nustatyta 100 polimorfinių lokusų. Atlikti šių lokusų tyrimai parodė, kad iš 37-ių populiacijų 19 yra polimorfinės. Mažiausi genetiniai polimorfinių populiacijų rodikliai (H_j , PLP (5 %), Br) buvo Minsko plento (MIN) populiacijoje ($H_j = 0,017$; PLP (5 %) = 0,21; Br = 1,105), didžiausi – Kariotiškių sąvartyno (KAR) populiacijoje ($H_j = 0,326$; PLP (5 %) = 0,80;

Br = 1,748) (12 lentelė). Genotipinės įvairovės tyrimas parodė, kad genotipų skaičius populiacijoje svyruoja nuo 1 iki 13. Daugiausia genotipų buvo nustatyta CEK populiacijoje. Tirtose populiacijose buvo nustatyti iš viso 107 genotipai, iš kurių 53,3 % buvo unikalūs, t. y. nustatyti pavieniuose individuose. 47,6 % pusiau natūralių augaviečių (10 iš 21) ir tik 25 % pažeistų augaviečių populiacijų (4 iš 16) buvo monomorfinės. Ištyrus po 342 individus, surinktus pusiau natūraliose ir antropogenuose augavietėse, buvo nustatyti atitinkamai 66 ir 42 genotipai. Vidutinis genotipų skaičius pusiau natūralių augaviečių populiacijoje buvo šiek tiek didesnis ($3,1 \pm 0,7$) palyginti su antropogenuose ($2,6 \pm 0,3$). Tačiau šis skirtumas buvo statistiškai nepatikimas ($U = 153,5$; $p = 0,66$). Vienas *E. annuus* genotipas buvo nustatytas 9-iose populiacijose. Populiacijų genotipinė įvairovė (i) buvo skirtinga – nuo 0,042 iki 0,542. Didesnė vidutinė genotipinė įvairovė ($0,185 \pm 0,032$) buvo aptikta populiacijose, kurios įsikūrę pusiau natūraliose augavietėse palyginti su antropogenuose augaviečių populiacijų genotipine įvairove ($0,135 \pm 0,023$). Vienodumo indeksas (E) varijavo nuo 0,244 iki 1. Populiacijoms iš pusiau natūralių augaviečių buvo būdinga ir didesnė vidutinė E reikšmė ($0,576 \pm 0,063$) palyginti su antropogenuose populiacijomis ($0,509 \pm 0,039$). Tačiau abu šie rodikliai (i ir E) patikimai nesiskyrė tarp dviejų populiacijų grupių (genotipinės įvairovės atveju $U = 145$, $p = 0,48$; vienodumo indekso – $U = 113$, $p = 0,095$).

3.3.2. Populiacijų genetinės struktūros palyginimas

Atlikus hierarchinę visų 37-ių populiacijų molekulinės genetinės įvairovės analizę (AMOVA) nustatyta didelė populiacijų genetinė diferenciacija ($\Phi_{PT} = 0,606$), 11 % genetinės įvairovės pasiskirstė tarp populiacijų iš skirtingų augaviečių ($\Phi_{RT} = 0,108$) ir 50 % – tarp populiacijų augaviečių viduje (13 lentelė). 39 % visos genetinės įvairovės buvo populiacijų viduje. AFLP – SURV analizė parodė panašias augavietės įtakos genetiniam kintamumui vertes ($F_{st} = 0,126$) (duomenys nepavaizduoti). Populiacijų iš skirtingų augaviečių analizė atskleidė, kad populiacijos, įsikūrusios pusiau natūraliose augavietėse, buvo labiau diferencijuotos ($F_{st} = 0,647$) palyginti su antropogenuose augaviečių populiacijomis ($F_{st} = 0,344$).

12 LENTELĖ. *E. amnūs* pusiau natūralių ir antropogenuotų augviečių populiacijų genetinės ir genotipinės įvairovės rodikliai

Populiacija	Populiacijos kodas	G	i (G/N)	E	Hj	Br [12]	PLP 5 % [12]
Pusiau natūralių augviečių populiacijos							
Naujasis Janavas	NJA	1	0,083	1	0	1	0
Marijampolė	MRA	2	0,167	0,973	0,316	1,600	0,60
Bezdonys	BEZ	2	0,167	0,590	0,078	1,470	0,47
Gelgaudiškis	GEL	3	0,250	0,558	0,183	1,590	0,59
Vilnius A	VLNA	1	0,083	1	0	1	0,00
Kena	KEN	6	0,500	0,750	0,231	1,680	0,68
Tarprubežiai	TAR	1	0,077	1	0	1	0
Senoji Varėna	SVV	1	0,067	1	0	1	0
Druskininkai	DRU	1	0,083	1	0	1	0
Patašinė	PAT	1	0,042	1	0	1	0
Prienai	PRI	5	0,208	0,490	0,046	1,205	0,27
Trakai	TRA	8	0,333	0,244	0,179	1,612	0,69
Čekoniškės	CEK	13	0,542	0,477	0,286	1,700	0,74
Dūkštos	DUK	1	0,042	1	0	1	0
Kernavė A	KERA	2	0,167	0,590	0,091	1,550	0,55
Sudervė	SUD	6	0,250	0,290	0,162	1,544	0,66
Aukštadvaris	AUK	1	0,042	1	0	1	0
Nemėžis	NEM	1	0,083	1	0	1	0
Kalistiškės	KLK	1	0,083	1	0	1	0
Ozo g., Vilnius	VLNF	5	0,357	0,603	0,320	1,721	0,74
Jurbarkas A	JURA	3	0,250	0,774	0,256	1,480	0,48
Vid. ± SE		3,095 ± 0,679	0,185 ± 0,032	0,576 ± 0,063	0,195 ± 0,029	1,559 ± 0,043	0,59 ± 0,04

12-tos lentelės tęsinys

Populiacija	Populiacijos kodas	G	i (G/N)	E	Hj	Br [12]	PLP 5 % [12]
Antropogenizuotų augviečių populiacijos							
Pagiriai A	PGA	1	0,083	1	0	1	0
Savanorių pr., Vilnius	VLNB	5	0,167	0,265	0,124	1,547	0,77
Kariotiškių sąv.	KAR	4	0,167	0,713	0,326	1,748	0,80
Pagirių šiltnamiai	PGS	4	0,167	0,324	0,100	1,473	0,70
Gariūnai	GAR	4	0,333	0,429	0,218	1,740	0,74
Oslo g., Vilnius	VLNC	3	0,125	0,395	0,082	1,436	0,72
Mickūnų sąv.	MIC	2	0,083	0,543	0,034	1,205	0,41
Polocko g., Vilnius	BEL	2	0,083	0,543	0,035	1,210	0,42
Kalvarijų g., Vilnius	VLND	2	0,167	0,590	0,104	1,630	0,63
Grigiškės	GRI	4	0,167	0,522	0,262	1,655	0,76
Užukampis	UZK	2	0,083	0,543	0,037	1,220	0,44
Panerių šiltnamiai	VLNE	1	0,042	1	0	1	0
Minsko plentas	MIN	2	0,083	0,543	0,017	1,105	0,21
Fabijoniškių sąv.	VLNG	1	0,042	1	0	1	0
Jurbarkas B	JURB	4	0,333	0,693	0,251	1,480	0,48
Geležinkelio g., Vilnius	VLNH	1	0,042	1	0	1	0
Vid. ± SE		2,625 ± 0,340	0,135 ± 0,023	0,509 ± 0,039	0,133 ± 0,030	1,454 ± 0,064	0,59 ± 0,05

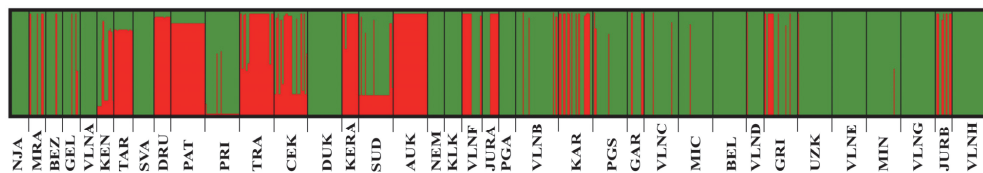
G – genotipų skaičius; i (G/N) – genotipinė įvairovė; E – vienodumo (angl. *evenness*) indeksas; Hj – tikėtinas heterozigotiškumas; Br [12] – lokusų gausumas populiacijoje, sudarytoje iš 12-os, AFLPdiv v. 1.1 programos atsitiktinai išrinktų, individų; PLP 5 % [12] – polimorfinių lokusų santykis, populiacijoje, sudarytoje iš 12-os, atsitiktinai išrinktų individų

13 LENTELĖ. *E. annuus* pusiau natūralių ir antropogenuotų augaviečių 37-ių populiacijų molekulinė genetinė įvairovė (AMOVA)

Variacijos lygmuo	¹ df	² SS	Variacijos komponentas	%
Tarp augaviečių*	1	587,896	1,336	11
Tarp populiacijų augaviečių viduje*	35	4123,272	6,147	50
Populiacijų viduje*	647	3150,661	4,870	39
Populiacijos, išsikūrusios pusiau natūraliose augavietėse				
Tarp populiacijų*	20	3268,720	9,781	66
Populiacijų viduje	321	1624,619	5,061	34
Populiacijos, išsikūrusios antropogenuotose augavietėse				
Tarp populiacijų*	15	854,552	2,458	34
Populiacijų viduje	326	1526,042	4,681	66

* P ≤ 0,001; ¹df – laisvės laipsniai, ²SS – kvadratų suma

Panašūs rezultatai buvo gauti naudojant ir standartizuotą populiacijų rinkinį (atitinkamai $F_{st} = 0,586$ ir $F_{st} = 0,338$). Šis F_{st} vertės skirtumas tarp populiacijų iš skirtingų augaviečių buvo statistiškai reikšmingas ($U = 4594$, $p = 0,0001$). Genetinė struktūra ir genetinės įvairovės pasiskirstymas populiacijose taip pat buvo analizuojama Bayeso grupavimo metodu Structure Harvester programa. Išanalizavus K reikšmes intervale nuo 1 iki 20, gautas didelis ΔK pikas, kai $K = 2$ ($\Delta K = 1005,3$). Analizė STRUCTURE programa sugrupavo visas populiacijas į du nevienodus klasterius (12 pav.): mažesnįjį (raudona spalva) ir didesnįjį (žalia spalva). Nepaisant to, kad dauguma populiacijų yra susimaišiusios, matosi ir kai kurie skirtumai tarp populiacijų iš skirtingų augaviečių.



12 PAV. *E. annuus* populiacijų Bayeso analizės vaizdinė išraiška, naudojant STRUCTURE, kai $K = 2$. Žalia ir raudona spalvos žymi du skirtingus klasterius. Vertikali siaura juostelė – atskiras individas. Populiacijos atskirtos juodomis vertikaliomis linijomis. NJA-JURA – pusiau natūralių augaviečių populiacijos; PGA-VLNH – antropogenuotų augaviečių populiacijos. Populiacijų kodai pateikti 12-oje lentelėje

Daugelis pusiau natūralių augaviečių populiacijų (KEN, TAR, DRU, PAT, TRA, CEK, KERA, SUD, AUK, VLNF, JURA) turi tendenciją grupuotis į raudonąjį klasterį. Raudonojo klasterio populiacija AUK buvo genetiškai homogeniška. Pusiau natūralių augaviečių populiacijos (6 iš 21): NJA, VLNA, SVA, DUK, NEM, KLK taip pat buvo ho-

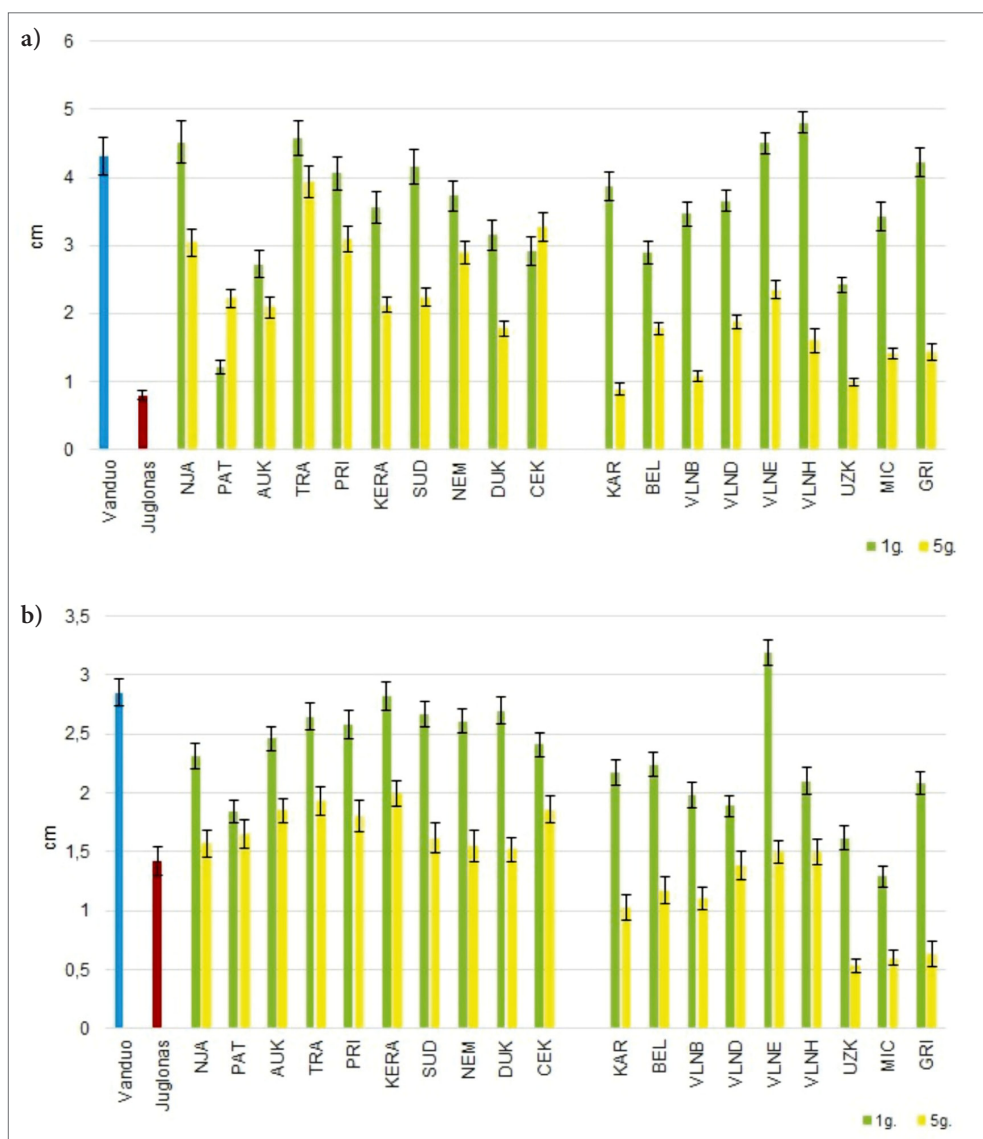
mogeniškos, bet grupavosi į antrąjį (žaliąjį) klasterį. Visos antropogenuotų augaviečių populiacijos, išskyrus KAR ir JURB, buvo priskirtos žaliajam klasteriui. Iš jų šešios – BEL, VLND, UZK, VLNE, VLNG, VLNH buvo genetiškai homogeniškos. Penkios populiacijos – VLNB, PGS, VLNC, MIC, MIN buvo mišrios. Tik keturios antropogenuotų augaviečių populiacijos – KAR, GAR, GRI, JURB buvo gana stipriai susimaišiusios.

Mantel'io testas parodė, kad antropogenuotų augaviečių populiacijų grupėje yra koreliacija tarp populiacijų Nei genetinių atstumų (Nei, 1972) ir geografinių atstumų ($r = 0,532$, $p = 0,02$). Tačiau populiacijų iš pusiau natūralių augaviečių grupėje nebuvo nustatyta nuo atstumo tarp populiacijų priklausanti izoliacija (angl. *isolation by distance* – IBD) ($r = -0,207$; $p > 0,45$). IBD buvo nustatyta ir visam populiacijų skaičiui ($r = 0,228$, $p = 0,027$).

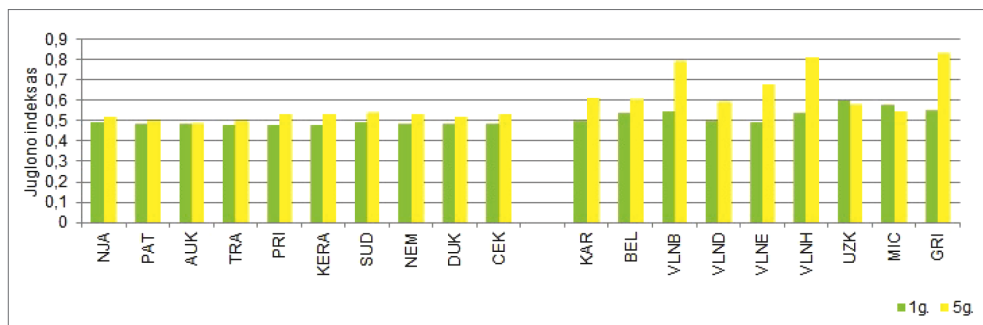
3.3.3. Alelopatinio potencialo įvertinimas

Alelopatiniam potencialui įvertinti *E. annuus* augalai buvo surinkti iš dešimties populiacijų, įsikūrusių pusiau natūraliose augavietėse ir iš devynių, kurios įsikūrę antropogenuotose augavietėse. Tryliktame paveiksle parodytas *E. annuus* augalų ekstraktų skirtingų koncentracijų (1 g ir 5 g sausos medžiagos) poveikis baltosios garstyčios (*Sinapis alba*) daigų šaknelių ir stiebelių ilgiui. Ekstraktų poveikio efektyvumas buvo vertinamas palyginus jį su juglono (sk.2.7.) ir H₂O (kontrolės) poveikiu *S. alba* daigams. Stebint šaknelių (13 pav., a) ir stiebelių (13 pav., b) vidutinį ilgį, matyti, kad augalų, kurie augo antropogenuotose augavietėse, didesnės koncentracijos ekstraktai stipriau slopino ir šaknelių, ir stiebelių augimą (atitinkamai $U = 16$, $p = 0,017$; $U = 0$; $p = 0,002$). Kai kuriais atvejais, pvz., po populiacijų KAR, BEL, VLNB, UZK, MIC, GRI augalų ekstraktų poveikio, stiebelių augimas buvo slopinamas statistiškai reikšmingai stipriau palyginti su 1 mM juglono poveikiu. KAR ir UZK populiacijų augalų didesnės koncentracijos ekstraktai slopino šaknelių augimą panašiai kaip juglonas (13 pav., a). Laikantis nuomonės, kad alelopatija gali būti vienas iš invazijos mechanizmų, įdomu pastebėti tai, kad augalų, augusių antropogenuotose augavietėse, ekstraktai pasižymėjo stipresniu inhibicijos efektu palyginti su ekstraktais tų augalų, kurie augo pusiau natūraliose augavietėse.

Vertinant atskirų augalų rūšių ar jas sudarančių populiacijų alelopatines savybes, svarbu nustatyti cheminių junginių, kuriuos augalai išskiria į aplinką, poveikį greita augančių augalų savybėms (morfologinėms, anatominėms ir kt.) (Csiszár (2009)). Vienas iš tokių rodiklių, kuriuo remiantis vertinamas augalų alelopatinis potencialas, yra juglono indeksas.



13 PAV. *E. annuus* populiacijų iš pusiau natūralių ir antropogenizuotų augaviečių augalų ekstraktų (1 g ir 5 g) poveikis *S. alba* šaknelių ir stiebelių ilgiui. a) vidutinis šaknelių ilgis (cm); b) vidutinis stiebelių ilgis (cm). NJA-CEK – pusiau natūralių augaviečių populiacijos; KAR-GRI – antropogenizuotų augaviečių populiacijos. Populiacijų kodai pateikti 12-oje lentelėje. 1g, 5g – naudoti tyrimams skirtingos koncentracijos (1g/100ml ir 5g/100ml) *E. annuus* vandeniniai ekstraktai



14 PAV. *E. annuus* pusiau natūralių ir antropogenizuotų augaviečių populiacijų juglono indekso palyginimas. NJA-CEK – pusiau natūralių augaviečių populiacijos; KAR-GRI – antropogenizuotų augaviečių populiacijos. Populiacijų kodai pateikti 12-oje lentelėje. 1g, 5g – naudoti tyrimams skirtingos koncentracijos (1g/100ml ir 5g/100ml) *E. annuus* vandeniniai ekstraktai

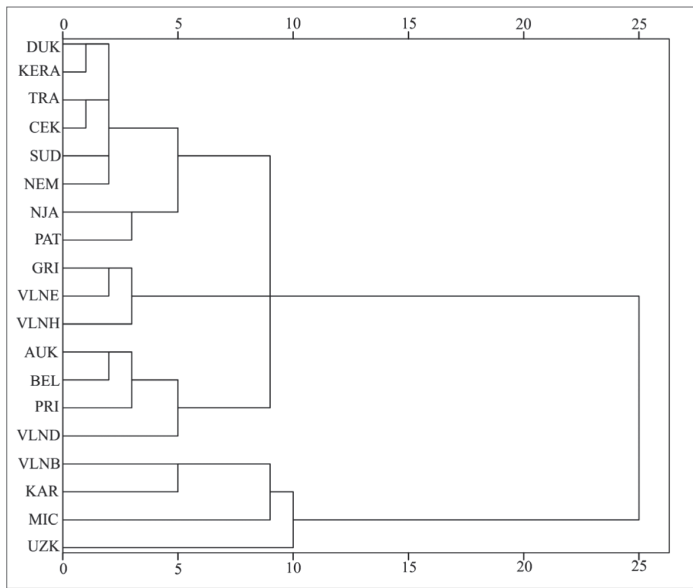
Palyginus augalų, surinktų pusiau natūraliose ir antropogenizuotose augavietėse, juglono indeksą (14 pav.), matyti ta pati, kaip ir šaknelių bei stiebelių ilgio tyrime, tendencija – antropogenizuotų augaviečių populiacijų augalų juglono indeksas buvo didesnis palyginti su pusiau natūralių populiacijų augalų abiejų koncentracijų ekstraktų juglono indeksu (1 g ekstraktai: $U = 88$, $p < 0.05$; 5 g ekstraktai $U = 90$, $p < 0.05$).

3.4. *Erigeron annuus* populiacijų tyrimo vietų dirvožemio cheminė sudėtis

Viršutinio dirvožemio sluoksnio pavyzdžiai buvo surinkti populiacijų augimo vietose. Buvo nustatytos 13-os cheminių elementų koncentracijos (14 lentelė). Klasiterių analizė buvo atlikta Ward metodu naudojant augaviečių euklidinius atstumus. Penkioliktame paveiksle pateikta dendrograma vaizduoja 19-os populiacijų, kuriose buvo surinkti vienmetės šiušėlės pavyzdžiai alelopatiniams tyrimams, grupavimąsi pagal geocheminius augaviečių skirtumus. Rezultatai parodė, kad visos pusiau natūralių augaviečių populiacijos išskyrus, Prienų (PRI) ir Aukštadvario (AUK), pagal augaviečių dirvožemio cheminę sudėtį grupavosi atskirai nuo antropogenizuotų augaviečių ir buvo ant tos pačios dendrogramos šakos (15 pav.). Pagal augaviečių dirvožemio cheminę sudėtį visos antropogenizuotų augaviečių populiacijos grupavosi apatinėje dendrogramos dalyje, o dirvožemis pasižymėjo padidėjusiu kai kurių elementų (Zn, Pb, Ni, Mo, Cu) kiekiu.

14 LENTELĖ. *E. annuus* populiacijų pusiau natūralių ir antropogenuotų augviečių dirvožemio 13-os cheminį elementų koncentracijos (mg kg⁻¹)

Populiacijos kodas	As	Ba	Co	Cr	Cu	Mn	Mo	Ni	Pb	Se	Sn	V	Zn
Populiacijos iš pusiau natūralių augviečių													
NJA	3,000	349,330	3,069	21,736	9,460	442,589	2,772	16,088	13,994	1,000	2,392	21,719	69,977
PAT	3,117	344,797	3,425	34,727	9,855	309,867	,700	14,004	13,683	,400	1,500	21,914	44,375
PRI	2,762	224,946	1,180	4,496	4,034	167,641	,700	3,386	5,395	,400	1,500	8,159	14,476
TRA	3,117	283,776	3,431	23,417	6,884	336,346	2,368	7,887	11,823	,400	1,591	18,412	29,154
CEK	2,407	315,236	3,371	22,935	6,194	438,201	,976	7,546	13,045	,400	1,500	17,746	32,069
DUK	2,610	363,741	3,467	22,881	7,428	259,315	,836	9,642	11,823	,400	1,500	15,019	32,366
KER	2,103	323,028	3,049	25,025	9,260	334,841	1,633	10,766	12,355	,400	1,500	17,259	42,052
SUD	3,016	336,372	1,646	20,040	3,839	381,581	1,004	6,914	11,611	,400	1,500	9,076	25,150
AUK	2,661	289,571	3,690	16,181	6,884	232,285	1,004	7,254	8,636	,400	1,500	13,153	20,060
NEM	2,052	321,178	4,511	14,359	6,046	405,603	,701	9,398	14,586	,400	1,500	8,492	40,767
Vidurkis	2,684	315,198	3,084	20,580	6,988	330,827	1,269	9,288	11,695	,460	1,598	15,095	35,045
± SE	,125	12,794	,308	2,488	,666	28,699	,235	1,157	,875	,060	,089	1,649	4,928
Populiacijos iš antropogenuotų augviečių													
VLNB	3,000	361,142	4,247	10,000	95,423	333,859	2,081	11,015	56,293	1,000	11,339	24,500	214,047
KAR	3,000	365,967	4,664	37,250	73,910	288,790	1,602	17,064	38,325	1,000	6,427	18,618	181,019
MIC	3,199	465,949	5,618	37,126	18,294	282,236	17,013	9,603	19,851	1,000	6,646	17,116	120,837
BEL	2,711	268,728	2,270	17,307	14,191	238,503	,000	6,526	20,058	,398	1,500	12,422	73,533
VLND	1,500	284,750	5,297	14,573	33,656	182,185	,836	7,400	32,544	,495	1,500	24,420	141,881
GRI	4,226	335,291	3,491	15,187	12,952	330,303	1,000	6,778	23,972	1,000	2,523	10,000	111,033
UZK	5,406	317,379	5,418	27,115	36,280	599,384	1,818	14,885	23,321	1,000	5,988	46,509	332,836
VLNE	3,000	400,548	4,568	10,000	12,317	300,119	1,000	6,412	14,102	1,000	3,839	14,766	48,628
VLNH	3,353	325,222	1,245	19,234	11,153	340,479	1,000	4,000	33,083	1,000	5,023	12,321	52,012
Vidurkis	3,266	347,219	4,091	20,865	34,242	321,762	2,928	9,298	29,061	,877	4,976	20,075	141,758
± SE	,357	20,092	,499	3,526	10,168	38,582	1,773	1,437	4,256	,082	1,040	3,720	30,286

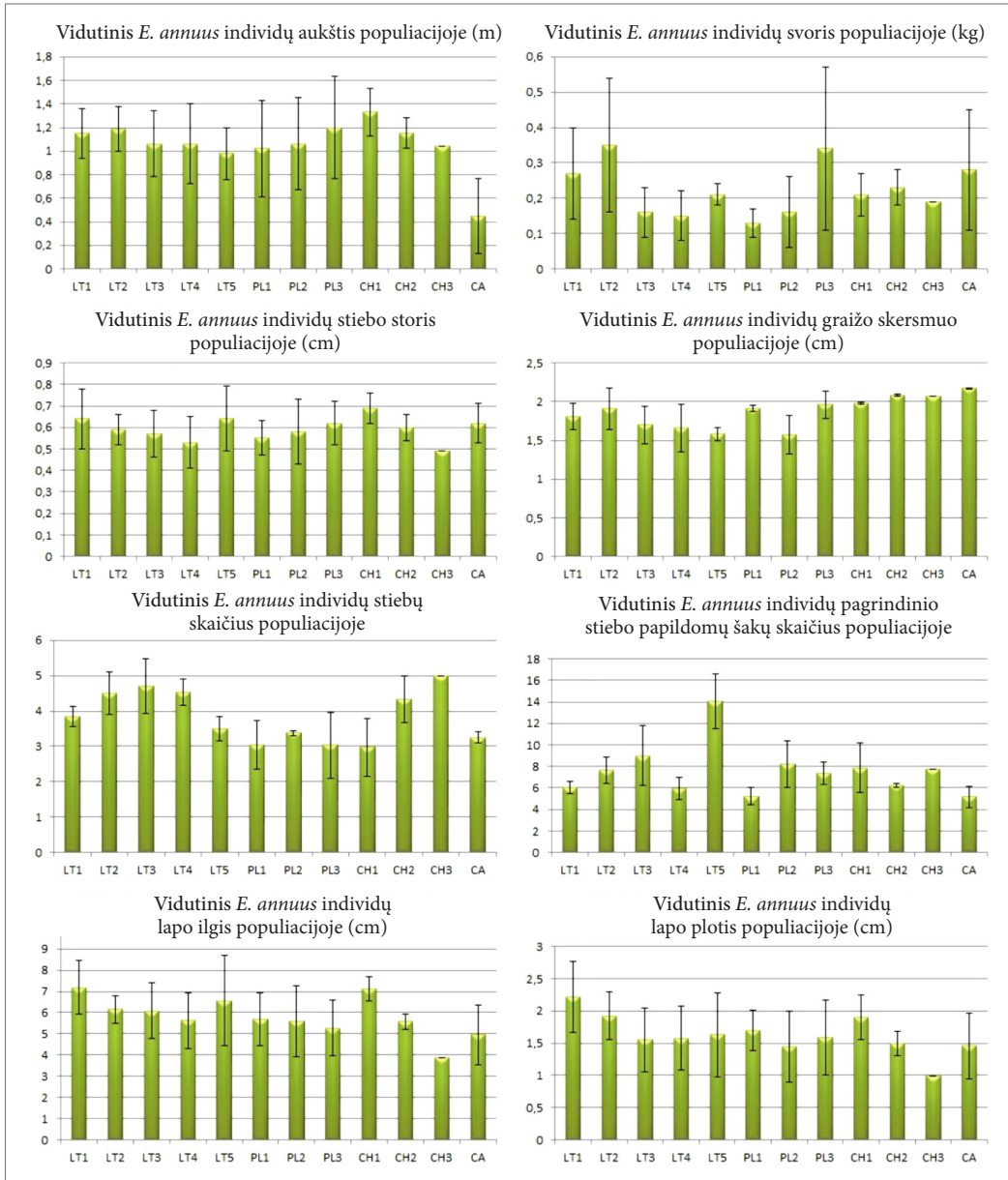


15 PAV. *E. annuus* pusiau natūralių ir antropogenizuotų augaviečių populiacijų dendrograma, nubraižyta remiantis augaviečių dirvožemio chemine sudėtimi. Populiacijų kodai pateikti 12-oje lentelėje

3.5. Eksperimentiniame sklype užaugintų *E. annuus* augalų morfologinių požymių analizė

Iš šešioliktame paveiksle pateiktų histogramų matyti, kad *E. annuus* tirtų populiacijų augalų vidutinis aukštis (m) svyravo nuo $0,98 \pm 0,30$ iki $1,33 \pm 0,31$. Aukščiausi buvo Sigirino (CH1) populiacijos augalai, mažiausi – Grigiškių (LT5). Likusiose populiacijose augalų vidutinis aukštis svyravo nežymiai (nuo $1,02 \pm 0,41$ iki $1,20 \pm 0,60$). Didžiausią svorį turėjo Lublino (PL3) populiacijos augalai, mažiausią – Szczuczyn (PL1) populiacijos. Šių populiacijų augalų vidutinis svoris (kg) buvo atitinkamai $0,34 \pm 0,33$ ir $0,13 \pm 0,05$. Išmatavus augalų aukštį ir pasvėrus juos, buvo išmatuotas pagrindinio stiebo storis 40 cm aukštyje. Didžiausias augalų vidutinis stiebo storis (cm) buvo ($0,69 \pm 0,10$) Sigirino (CH1) populiacijoje, mažiausias ($0,49 \pm 0,00$) – Züricho (CH3). Suskaičiavus augalų stiebus nustatyta, kad daugiausia jų turėjo Narbuto (LT2) populiacijos augalai, mažiausia – Sigirino (CH1). Vidutinis augalų stiebų skaičius šiose populiacijose buvo atitinkamai $5,08 \pm 0,31$ ir $2,97 \pm 1,15$. Buvo skaičiuojamos ir pagrindinio stiebo papildomos šakos. Daugiausia šakų ($14,04 \pm 3,59$) turėjo Grigiškių (LT5) populiacijos augalai. Tai beveik triskart daugiau palyginti su mažiausiu vidutiniu šakų skaičiumi ($5,17 \pm 1,41$), kuris nustatytas New Brunswick (CA) populiacijoje. Ilgiausi ir plačiausi lapai būdingi Sigirino (CH1) populiacijos au-

galams, trumpiausi ir siauriausi – Züricho (CH3) populiacijos augalams. Didžiausius graižus ($2,17 \pm 0,05$) turėjo New Brunswick (CA) populiacijos augalai, mažiausius ($1,57 \pm 0,35$) – Mrągowo (PL2) populiacijos augalai (16 pav.).

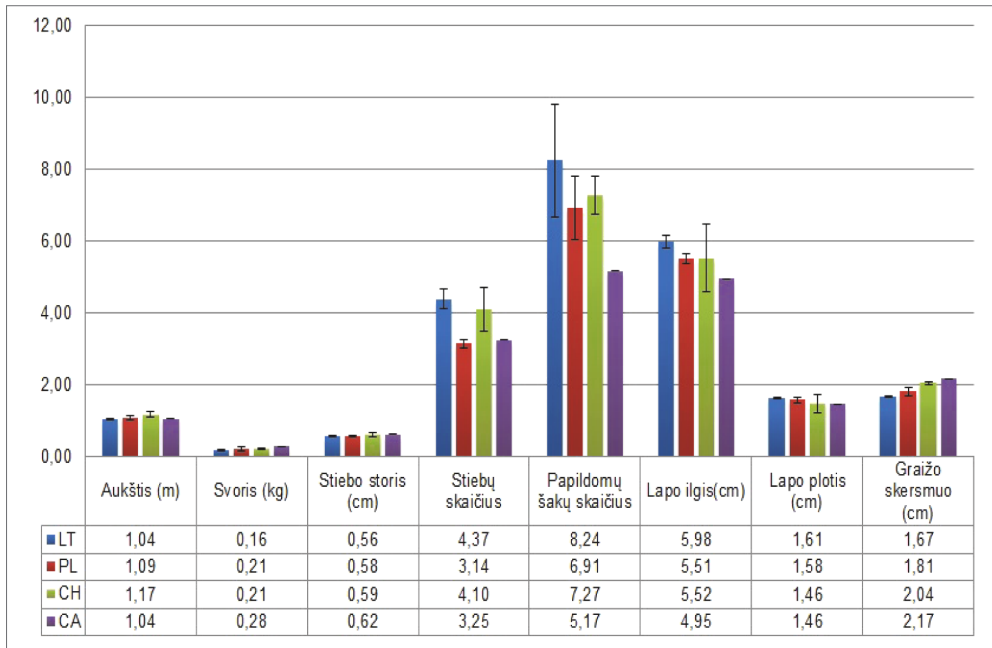


16 PAV. *E. annuus* 12-os populiacijų augalų morfometriniai rodikliai. LT1 – Pagirių, LT2 – Narbuto g., Vilnius, LT3 – Marijampolės, LT4 – Ozo g., Vilnius, LT5 – Grigiškių, PL1 – Szczuczyn, PL2 – Mrągowo, PL3 – Lublin, CH1 – Sigrino, CH2 – Locarno, CH3 – Zürich, CA – New Brunswick populiacijos.

Dviejų metų rezultatų analizė rodo, kad *E. annuus* būdingas didelis fenotipinis plastiškumas, kuris, matyt, ir vaidina svarbiausią vaidmenį rūšies įsikūrimo naujame areale pradžioje. Pavyzdžiui, buvo stebimas didelis kai kurių populiacijų augalų aukščio, svorio, stiebų skaičiaus, lapų pločio variavimas (16 pav.). Vis dėlto buvo nustatyti ir statistiškai reikšmingi kai kurių populiacijų augalų morfometrinių rodiklių skirtumai, pavyzdžiui, pagal augalų svorį, graižo skersmenį, stiebų skaičių, pagrindinio stiebo papildomų šakų skaičių, lapo ilgį ir plotį. Tai rodo, kad kai kuriose populiacijose įvyko gamtinės atrankos palaikomi genetiniai pokyčiai, kurie nulėmė adaptaciją prie vietos sąlygų. Ypač įdomūs yra populiacijų skirtumai pagal graižo skersmenį, stiebų ir pagrindinio stiebo šakų skaičių: *E. annuus* natyvaus arealo populiacija (CA) skiriasi nuo kai kurių Lietuvos, Lenkijos, Šveicarijos invazinio arealo populiacijų. Iš Lietuvos populiacijų išsiskyrė LT5, kuri pagal graižo skersmenį statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kai kurių Lenkijos ir Šveicarijos populiacijų, o pagal pagrindinio stiebo papildomų šakų skaičių – ne tik nuo kai kurių Šveicarijos, Lenkijos, Kanados, bet ir nuo Lietuvos populiacijų. Iš Lietuvos populiacijų taip pat išsiskyrė LT2, kurios augalai turėjo statistiškai reikšmingai didesnę stiebų skaičių palyginti su kai kuriomis Lietuvos, Lenkijos, Šveicarijos, Kanados populiacijomis.

Septynioliktame paveiksle pateikiamos vidutinės morfologinių požymių skaitinės reikšmės ne atskiroms populiacijoms, o šalims, kuriose surinkti šių populiacijų augalai. Histogramoje matyti, kad atskirų šalių populiacijų augalų aukštis varijavo nežymiai: Lietuvos ir Kanados populiacijų augalų vidutinis aukštis buvo vienodas – 1,04 m, Lenkijos – 1,09 m, Šveicarijos – 1,17 m. Nežymiai varijavo ir kitų dviejų morfologinių požymių (svorio ir stiebo storio) reikšmės. Sunkiausias (0,28 kg) ir storiausias (0,62 cm) stiebus turėjo Kanados populiacijos augalai, lengviausias (0,16 kg) ir ploniausias (0,56 cm) – Lietuvos populiacijų augalai. Vidutinis stiebų skaičius varijavo nuo 3,14 iki 4,37. Tarp kai kurių šalių (LT ir PL, tarp LT ir CA) buvo nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai pagal augalų stiebų skaičių. Daugiausia pagrindinio stiebo šakų (8,24) turėjo Lietuvos populiacijų augalai, mažiausiai (5,17) – Kanados. Kanados populiacijos augalų vidutinis pagrindinio stiebo šakų skaičius reikšmingai skyrėsi nuo kitų šalių (LT, PL, CH) populiacijų augalų. Vidutinis lapo ilgis varijavo nuo 4,95 cm iki 5,98 cm. Trumpiausias lapus turėjo Kanados populiacijos augalai, o ilgiausias – Lietuvos. Pagal vidutinį lapo ilgį nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp CA ir LT, tarp CA ir PL populiacijų. Nežymiai varijavo ir vidutinis lapo

plotis (nuo 1,46 cm iki 1,61 cm). Lapo plotis, kaip ir ilgis, statistiškai patikimai skyrėsi tarp CA ir LT, tarp CA ir PL populiacijų. Statistiškai reikšmingi skirtumai tarp atskirų šalių populiacijų (tarp CA ir LT, tarp CA ir PL, tarp CA ir CH) buvo ir pagal augalų graižo skersmenį. Didžiausius graižus (2,17 cm) turėjo Kanados populiacijos augalai, mažiausius (1,67 cm) – Lietuvos (17 pav.).

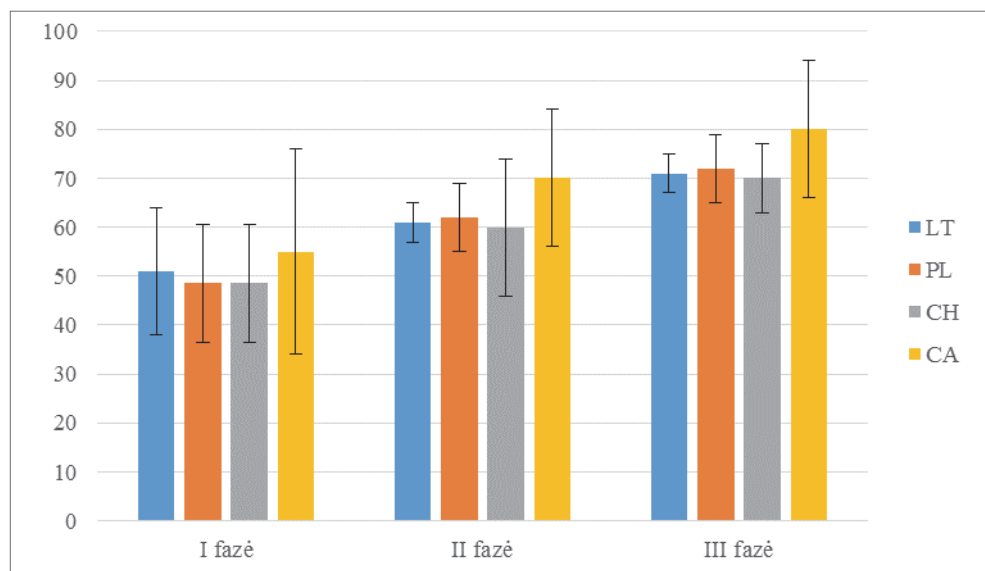


17 PAV. Skirtingų šalių *E. annuus* populiacijų augalų morfometrinių rodiklių. LT – Lietuvos populiacijos, PL – Lenkijos, CH – Šveicarijos, CA – Kanados

Apibendrinus skirtingų šalių *E. annuus* populiacijų augalų morfologinių požymių skirtumus, galima teigti, kad labiausiai iš visų išsiskiria Kanados New Brunswick populiacijos augalai. Jos augalams būdinga statistiškai reikšmingi mažesnis stiebų skaičius, trumpesni ir siauresni lapai palyginti su Lietuvos ir Lenkijos populiacijų augalais, mažesnis pagrindinio stiebo šakų skaičius ir didesni graižai palyginti su kitų šalių populiacijų augalais.

3.6. Bendrame sklype užaugintų *E. annuus* skirtingų šalių populiacijų augalų fenologijos duomenys

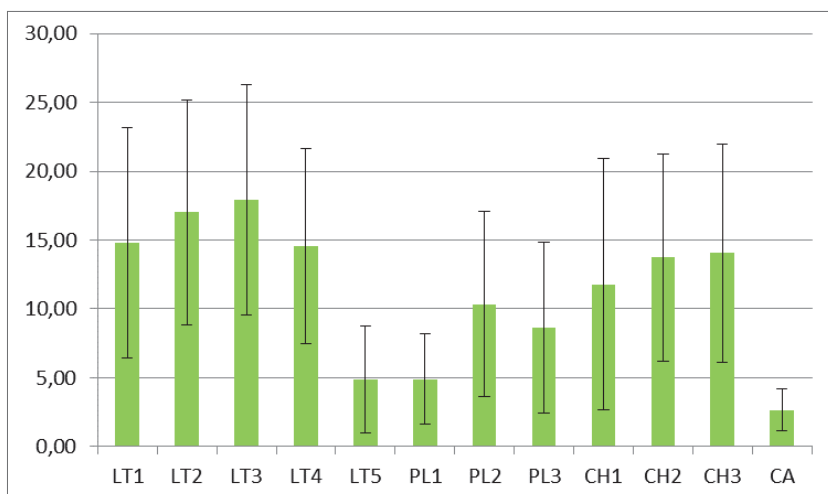
Pasodinus skirtingų šalių populiacijų augalus bendrame sklype, buvo stebima, per kiek dienų augalų vystymasis pasiekia šias tris fenologines fazes: I-oji – augalų stiebo ilgis ≥ 3 cm, II-oji – pumpurų susidarymo, III-oji – žydėjimo. Konstatuoti vieną ar kitą augalo vystymosi fazę galima tik tuomet, kai ją pasiekia 50 % augalų. Apskaičiavus vidutinį dienų skaičių iki fenologinių fazių pradžios, matyti, kad po augalų pasodinimo daugiausia dienų iki visų fenologinių fazių, vystėsi Kanados populiacijos augalai, atitinkamai iki kiekvienos fazės – 55, 70, 80 dienų (18 pav.). Palyginus šios *E. annuus* natyvos populiacijos augalų fenologiją su invazinių populiacijų fenologija, matyti, kad didžiausias vidutinis dienų skaičius (51) iki I-osios fazės būdingas Lietuvos populiacijų augalams. Lenkijos populiacijų augalams būdingas didžiausias dienų skaičius (62) iki pumpurų susidarymo ir žydėjimo (po 72 dienų). Vis dėlto šie skirtumai nėra statistiškai reikšmingi.



18 PAV. Vidutinis dienų skaičius iki *E. annuus* skirtingų šalių populiacijų augalų fenologinių fazių pradžios. LT – Lietuvos populiacijos, PL – Lenkijos, CH – Šveicarijos, CA – Kanados

3.7. *E. annuus* skirtingų populiacijų augalų, pasodintų bendrame sklype, stiebų augimo dinamika

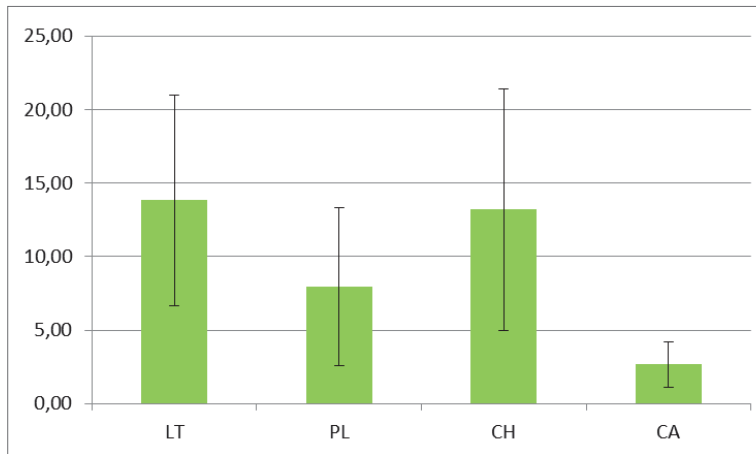
2013–2014 metais tris mėnesius kas dešimt dienų buvo matuojamas augalų, kurie augo bendrame sklype, stiebų aukščio prieaugis. Histogramoje (19 pav.) matyti, kad per dešimt dienų vidutinis aukščio prieaugis varijavo nuo 2,66 cm iki 17,92 cm. Mažiausias jis buvo New Brunswick populiacijos (CA) augalų, didžiausias – Marijampolės (LT3). Tarp Lietuvos populiacijų išsiskiria Grigiškių (LT5) populiacijos augalai, kuriems, palyginti su kitų Lietuvos populiacijų augalais, būdingas mažesnis vidutinis aukščio prieaugis per dešimt dienų. Dviejų Lenkijos populiacijų (PL2 ir PL3) augalų vidutinis aukščio prieaugis buvo atitinkamai 10,33 cm ir 8,63 cm, trečiosios (PL1) – beveik perpus mažesnis – 4,90 cm. Šveicarijos populiacijų augalų stiebų aukščio vidutinis prieaugis nežymiai varijavo: nuo 11,78 cm Sigirino (CH1) iki 14,04 cm Züricho (CH3) populiacijose. Kanados populiacijos augalų aukščio vidutinis prieaugis statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kai kurių Lietuvos (LT1, LT2, LT3, LT4) ir Šveicarijos (CH2, CH3) populiacijų augalų (19 pav.).



19 PAV. *E. annuus* skirtingų populiacijų augalų aukščio vidutinio prieaugio (cm) per 10 dienų palyginimas. LT1 – Pagirių, LT2 – Narbuto g., Vilnius, LT3 – Marijampolės, LT4 – Ozo g., Vilnius, LT5 – Grigiškės, PL1 – Szczuczyn, PL2 – Mrągowo, PL3 – Lublin, CH1 – Sigirino, CH2 – Locarno, CH3 – Zürich, CA – New Brunswick populiacijos

Palyginus atskirų šalių vienmetės šiušelės populiacijų augalų aukščio vidutinį prieaugį kas dešimt dienų (20 pav.), matyti, kad didžiausias prieaugis (13,82 cm) būdingas Lietuvos populiacijų augalams, mažiausias (2,66 cm) – Kanados populiacijos augalams. Šveicarijos populiacijų augalų vidutinis aukščio prieaugis buvo 13,19 cm, Lenkijos – 7,95 cm. Kanados populiacijos augalų vidutinis aukščio prieaugis statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo Lietuvos ir Šveicarijos populiacijų augalų aukščio prieaugio.

Šie rezultatai parodė, kad bendrame sklype vienodomis sąlygomis auginamų *E. annuus* augalų iš skirtingų šalių (Lietuvos, Lenkijos, Šveicarijos, Kanados) populiacijų vidutinis stiebo aukščio prieaugis per 10 dienų varijavo. Išsiskyrė New Brunswick (CA) populiacijos augalai, kurių vidutinis stiebo aukščio prieaugis statistiškai reikšmingai mažesnis palyginti su kai kurių Lietuvos ir Šveicarijos populiacijų augalais.



20 PAV. Skirtingų šalių *E. annuus* populiacijų augalų vidutinis aukščio prieaugis (cm) per 10 dienų. LT – Lietuvos populiacijos, PL – Lenkijos, CH – Šveicarijos, CA – Kanados

IV. REZULTATŲ APTARIMAS

4.1. *E. annuus* invazinių Lietuvos populiacijų genetinė struktūra

DNR žymenys plačiai naudojami invazinių rūšių populiacijų genetinės įvairovės tyrimams (Ward ir kt., 2008). Šiame darbe tiriant Lietuvos *E. annuus* populiacijų genetinę struktūrą, buvo panaudoti dviejų tipų DNR žymenys – RAPD ir ISSR. Yra paskelta daug darbų, kuriuose ta pati tyrimų medžiaga analizuojama naudojant du ar daugiau molekulinį žymenų metodų (Qian ir kt., 2001; Awasthi ir kt., 2004; Wu ir kt., 2004; Hou ir kt., 2005; Wang ir kt., 2005; Guo ir kt., 2006; Li ir kt., 2006; Ikegami ir kt., 2009; Patamsytė ir kt., 2011; Yilmaz ir kt., 2012; Ferreira ir kt., 2010; Khalik ir kt., 2014). Naudojant du DNR žymenų metodus tikėtasi gauti tikslesnius ir patikimesnius duomenis. Be to, naudojant didesni žymenų metodų skaičių, atliekama išsamesnė tiriamos rūšies genomo analizė. Dviejų žymenų metodų naudojimas itin svarbus poliploidams, tokiems kaip vienmetė šiušelė, kuri yra triploidas, tirti, kadangi dalis genotipų įvairovės poliploidinėse rūšyse gali būti neatskleista dėl kai kurių žymenų (pvz., RAPD, ISSR, AFLP) dominuojančiojo paveldėjimo pobūdžio (Chapman ir kt., 2004). Dviem ar daugiau žymenų metodais gautų rezultatų sutapimas gali eliminuoti argumentus apie šių žymenų netinkamumą invazinių augalų tyrimams (Kliber ir kt., 2005; Wang ir kt., 2008; Fitzpatrick ir kt., 2012).

Mūsų tyrime buvo nustatyta reikšminga koreliacija ($r = 0,91$, $p < 0,05$) tarp populiacijų genetinių atstumų, nustatytų naudojant RAPD ir ISSR duomenis. Nustatant monomorfines populiacijas abiem žymenų metodais buvo gauti beveik vienodi rezultatai. Tik viena populiacija (Vilnius C), naudojant RAPD metodą, buvo apibūdinta kaip monomorfinė, o naudojant ISSR metodą joje nustatytas nedidelis vidutinis polimorfinių lokusų nuošimtis (10,4).

Mūsų tyrimas atskleidė, kad tirtos Lietuvos *E. annuus* populiacijos yra dviejų tipų. Pirmajam tipui galima priskirti plačiai paplitusio pagrindinio klonu populiacijas ir keletą jam giminingų populiacijų, antrajam – polimorfines populiacijas. Vilniuje ir jo apylinkėse buvo rasta abiejų tipų populiacijų. Panaši situacija stebima ir centriniajame Lietuvos regione. UPGMA dendrogramos parodė, kad pagrindinis klonas susijęs su didelį klasterį sudarančių populiacijų genotipais. Į šį klasterį patenka mažiausiai 20 populiacijų. Įdomu, jog abiejose dendrogramose į šį klasterį patenka visos ketu-

rios populiacijos, kurių augalai buvo surinkti kapinėse. Šie rezultatai rodo ryšį tarp pagrindinio klonų ir kai kurių kitų genotipų, pasiskirsčiusių Lietuvos teritorijoje ir galimai naudotų sodybų bei atmintinų vietų puošimui.

Genetiniai procesai gali nulemti, ar svetimkraštė rūšis įsitvirtins ir išplis naujoje teritorijoje. Genų dreifas kolonizacijos metu gali būti genetinės įvairovės pokyčių introdukuotų augalų populiacijose priežastis. Dėl pradininko efekto dažnai stebimas genetinės įvairovės sumažėjimas nelytiškai besidauginančiose rūšyse (Husband ir Barrett, 1991; Ren ir Zhang, 2007). Kadangi mūsų tiriama vienmetė šiušelė yra dažniausiai apomiksės būdu besidauginanti rūšis (Gustafsson, 1946; Fagerlind, 1947; Noyes, 2000; Edwards ir kt., 2006), tai jos populiacijose turėtų būti stebimas įvairaus dydžio klonų paplitimas. Invazinių populiacijų genetinės įvairovės tyrimas naudojant DNR žymenis gali duoti naudingos informacijos apie šios rūšies populiacijų genetinę struktūrą, jų genetinius ryšius bei invazijos istoriją.

Atlikti vienmetės šiušelės Lietuvos populiacijų tyrimai atskleidė mažesnę genetinę įvairovę populiacijose ir didesnę diferenciaciją tarp populiacijų palyginti su kitų autorių tyrimų rezultatais. Tai, kad pusėje tirtų populiacijų nebuvo genetinio polimorfizmo, o polimorfinėse populiacijose buvo nedaug genotipų, rodo, kad Lietuvoje šiušelės populiacijose vyrauja dauginimasis apomiksės būdu. Edwards ir kt. (2006) tyrimų duomenimis dauguma *E. annuus* populiacijų iš Šiaurės Amerikos ir Vakarų Europos buvo polimorfinės, jose nustatytas gana didelis DNR polimorfizmas. Trtikova ir kt. (2011) tyrimo rezultatai parodė, kad 83 % tirtų Šveicarijos populiacijų buvo polimorfinės. Objektvų Lietuvos ir Vakarų Europos bei Amerikos populiacijų palyginimą apsunkina nevienodas ištirtų lokusų skaičius, o taip pat ir tai, kad šiuose tyrimuose buvo naudojami skirtingi metodai. Edwards ir kt. (2006) tyrime buvo analizuoti tik 39 RAPD lokusai, o Trtikova ir kt. (2011) tyrė 94 AFLP lokusus. Ištirus 328 Lietuvos populiacijų augalus, buvo nustatyti tik 49 skirtingi genotipai. Taigi, mūsų gauti rezultatai rodo, kad nepaisant tam tikrų metodologinių skirtumų tiriant skirtingų šalių populiacijas, Lietuvoje jų polimorfizmas yra mažiausias. Palyginti maža genetinė įvairovė Lietuvoje gali būti paaiškkinama invazijos istorija (Kuprevičius, 1931; Mowszowicz, 1938; Gudžinskas, 1997). Priežastis galėtų būti trumpesnė šios rūšies invazijos istorija Lietuvoje ir pasireiškęs pradininko efektas (Ren ir Zhang, 2007; Budde ir kt., 2011). Invazinėms rūšims dažnai būdingas pradininko efekto sąlygotas genetinės įvairovės sumažėjimas. Dlugosch ir Parker 2008 metais išleistoje apž-

valgoje aprašo reikšmingą alelių gausumo ir heterozigotiškumo sumažėjimą populiacijose, kurios įsikūrę jų introdukcijos regionuose, palyginti su natūraliai augančiomis populiacijomis. Daugkartinė introdukcija sušvelnina pradininko efekto padarinius, ypač kryžmadulkėse rūšyse (Nowak ir Mack., 2005). Kaip kontrastas, dauginimasis klonais gali riboti arba visiškai užkirsti kelią genetiškai skirtingų genotipų maišymuisi. Genų srautas yra labai sumažėjęs daugelyje klonais besidauginančių rūšių (Eckert, 2002). Augalų lytinio dauginimosi mastai yra kritinis veiksnys nulemiantis ir lokaliai adaptacijos tempą. Klonais besidauginantis vandens augalas skėtinis bėžis (*Butomus umbellatus*) vaizdžiai iliustruoja genetinės įvairovės sumažėjimą. Ši rūšis geba daugintis lytiškai sėklomis ir vegetatyviniu būdu rizomų fragmentais (Lui ir kt., 2005). Tai vietinė Eurazijos rūšis, kuri buvo introdukuota į Šiaurės Ameriką ir labai išplito. Kliber ir Eckert (2005), naudodami RAPD metodą, palygino vietinių ir introdukuotų populiacijų genetinę įvairovę. Vietinių ir introdukuotų populiacijų genetinės įvairovės tyrimai parodė, kad invazinėmis tapusiose populiacijose dominuoja vegetatyvinis dauginimasis. Ištyrus 142 vietinių populiacijų augalus buvo nustatyti 47 genotipai, o tarp ištirtų 138-ių augalų iš invazinių populiacijų buvo aptikti tik 6 genotipai. Adaptacijos evoliucijos tikimybę nulemia dauginimosi sistema, kadangi ji turi įtakos populiacijų genetiniams rodikliams, tarp jų ir genetinės rekombinacijos dažniui, efektyviam populiacijų dydžiui, genų srautui bei genetinės įvairovės pasiskirstymui populiacijų viduje ir tarp populiacijų. Barret ir kt. (2008), norėdami nustatyti dauginimosi sistemų įvairovės reikšmę augalų evoliucijai invazijos metu, tyrė dauginimosi būdo įtaką dideliais atstumais vykstančių kolonizacijos procesų sukeliams genetinėms pasekmėms ir adaptacijos tikimybei invazijos metu. Nustatyta, kad dažnai klonus sudarančių įsiveržėlių populiacijose pasireiškęs stiprus pradininko efektas ir lytinio dauginimosi ribojimas susiaurina lokaliai adaptacijos galimybes.

Mūsų tyrimų rezultatai parodė, kad *E. annuus* Lietuvos populiacijose yra plačiai paplitęs vienas genotipas (klonas). Su tam tikromis išlygomis jis, galbūt, galėtų būti vadinamas bendros paskirties genotipu (angl. *general-purpose genotype*), kuris dėl savo fenotipinio plastiškumo tarpsta skirtingose augavietėse (Baker, 1965; Parker ir kt., 2003). Bendros paskirties genotipai (genotipai, kurie pasižymi dideliu fenotipiniu plastiškumu) gali būti sėkmingo invazinių rūšių plitimo priežastimi (Parker ir kt., 2003; Budde ir kt., 2011). Remiantis Baker (1965, 1974) tyrimais galima teigti, kad dėl tokių bendros paskirties genotipų, kurie pasižymi dideliu fenotipiniu plas-

tiškumu ir gali prisitaikyti prie skirtingų aplinkos sąlygų, kai kurios invazinės rūšys gali plačiai paplisti. Tas faktas, kad apomiksės būdu besidauginančių rūšių augalai įsikuria įvairesnėse aplinkos sąlygose palyginti su lytiniu būdu besidauginančiais jų giminaičiais, paskatino hipotezės, kuri teigia, kad apomiksės būdu besidauginantys augalai dažniau turi bendros paskirties genotipus, atsiradimą. Šie genotipai yra palyginti nejautrūs aplinkos sąlygų pokyčiams. Hipotezė buvo patikrinta su *Antennaria parvifolia* (Asteraceae) lytiniu ir apomiksės būdu besidauginančiais genotipais (Bierzuchdek, 1989). Šie genotipai buvo auginami auginimo kamerose, kuriose buvo sudarytos skirtingos temperatūros ir drėgmės sąlygos. Apomiksės būdu besidauginantys augalai buvo mažiau jautrūs aplinkos sąlygoms palyginti su lytiniu būdu besidauginančiais. Biomassės variavimo koeficientas buvo patikimai mažesnis apomiktų nei lytiniu būdu besidauginančių augalų. Lytiškai besidauginančius augalus nelytiškai besidauginantys lenkė vidutiniu išgyvenamumu, vidutine biomase ir vidutine žiedų produkcija. Šie rezultatai lyg ir patvirtino hipotezę, kad apomiksės būdu besidauginantys augalai turi labiau išreikštus bendros paskirties genotipo požymius negu lytiniu būdu besidauginantys augalai.

Tačiau mūsų darbe, norint patikrinti bendros paskirties genotipo hipotezę, reikalingi papildomi *E. annuus* rūšies populiacijų genetiniai tyrimai. Taip pat reikia paminėti, kad, tikriausiai, nėra išimtinai tik apomiksės būdu besidauginančių augalų rūšių (Asker ir Jerling, 1992).

Mūsų tyrimai atskleidė didelę *E. annuus* populiacijų genetinę diferenciaciją ($G_{ST} = 0,58$ panaudojant RAPD žymenis; $G_{ST} = 0,64$ – ISSR žymenis). Trtikovos ir kt. (2011) darbe AFLP metodu buvo nustatyta taip pat didelė Šveicarijos populiacijų genetinė diferenciacija ($G_{ST} = 0,46$). Tačiau ji skyrėsi žemumų ir kalnų populiacijų grupėse. Žemumų populiacijos buvo panašesnės tarpusavyje ($G_{ST} = 0,33$) palyginti su kalnų ($G_{ST} = 0,55$) populiacijomis. Didesnę Lietuvos populiacijų genetinę diferenciaciją, galbūt, nulemia nesena šios rūšies gyvavimo Lietuvoje istorija ir pasireiškęs pradininko efektas.

Informacijos apie vienmetės šiušelės patekimo į Lietuvą tikslų laiką ir būdą nėra. Galbūt *E. annuus* rūšies augalai į mūsų šalį buvo atvežti kaip dekoratyvūs ar pateko kaip priemaišos su kitų dekoratyvinių augalų sėklomis. Vienintelė vieta, kurioje galima tikėtis rasti seniausiai įsikūrusius genotipus, yra senosios kapinės ar Vilniaus apylinkės. Pradinių genotipų kilmę būtų galima paaiškinti remiantis dviem prieš-

taringom prielaidom. Pirma, pradinis genotipas atsiradęs / introdukuotas pietryčių Lietuvoje, vėliau dalinai išsiskyrė į keletą klonų ir išplito šiaurės bei šiaurės-vakarų kryptimis. Kita prielaida būtų ta, kad pradinis genotipas buvo panašus, į tuos, kurie dabar aptinkami senosiose kapinėse ir keletas genotipų (įskaitant ir pagrindinį kloną) kilo iš pradinio ir vėliau ėmė veržtis į natūralias ekosistemas. Šios rūšies paplitimas senosiose Lietuvos kapinėse ir mūsų dienomis tuose rajonuose, kuriuose vienmetės šiušelės nėra gamtinėse ekosistemose, patvirtina šią prielaidą. Kadangi šios rūšies augalai vis dar auginami kaip dekoratyviniai soduose, kapinėse, tai, susidarius palankioms sąlygoms, galimas tolimesnis nekontroliuojamas šios rūšies augalų iš tokių „genetinių draustinių“ išiveržimas į natūralias ekosistemas. Palankios sąlygos gali susidaryti ir dėl visuotinio klimato šiltėjimo bei žmogaus veiklos sukeltų natūralių ekosistemų pažeidimų.

Anksčiau atlikti tyrimai atskleidė keletą *E. annuus* naudojamų strategijų, kurios yra svarbios invazijos procese. Tai yra konkurencijos ir šienavimo toleravimas (Trtikova, 2009), didžiulė sėklų produkcija (Stratton, 1992), alelopatinių junginių sintezė (Nazaruk ir kt., 2010). Kaip ir kitų invazinių rūšių, vienmetės šiušelės plitimą galėjo paskatinti visuotinis klimato atšilimas, su kuriuo siejamas ilgesnis vegetacijos sezonas, minimalios temperatūros padidėjimas. Plitimą galėjo lemti ir antropogeniniai veiksniai: pastarųjų dešimtmečių žemės ūkio pokyčiai, iš kurių vienas svarbesnių invaziniam augalams plisti – kurį laiką didėjęs dirvonuojančių, nedirbamų laukų plotas, rūšies dekoratyvinės savybės, miesto zonos plėtimasis (Nicotra ir kt., 2010; Zybartaite ir kt., 2011).

4.2. *E. annuus* populiacijų genetinės įvairovės gradientas

Žinoma, jog invazinių rūšių plitimas sukuria genetinės įvairovės gradientą (Austerlitz ir kt., 1997; Klopstein ir kt., 2006; Baker ir Dyer, 2011). Svetimkraščių rūšių plitimą naujose teritorijose dažnai lydi pradininko efektas, kuris sąlygoja genetinės įvairovės sumažėjimą (Allendorf ir Lundquist, 2003; Dlugosch ir Parker, 2008). Ne toks ryškus genetinės įvairovės sumažėjimas yra tuomet, kai vyksta daugkartinė introdukcija (Bossdorf ir kt., 2005; Novak ir Mack, 2005; Facon ir kt., 2008; Darling ir kt., 2008; Dlugosch ir Parker, 2008). Į naujas teritorijas patekusių augalų genetinę įvairovę stipriai veikia ne tik daugkartinė introdukcija bet ir dauginimosi būdas (García-Ramos ir Rodríguez, 2002; Kinlan ir Hastings, 2005; Barret ir kt., 2008). Tam

tikrų rūšių augalai, kurie nesidaugina arba retai dauginasi lytiniu būdu, pasižymi mažesne genetinė įvairove ir turi ribotas lokals adaptacijos galimybes (Barret ir kt., 2008). Mūsų tyrimo objektas, vienmetė šiušėlė, dažniausiai dauginasi apomiksės būdu. Tačiau nustatyta, kad kartais vyksta ir lytinis dauginimasis (Edwards ir kt., 2006). Be dauginimosi būdo, svetimkraščių augalų genetinė įvairovė priklauso ir nuo laiko, kurį augalai tarpsta naujoje teritorijoje. Dėl to ilgainiui dažnai išryškėja svetimkraščių augalų genetinės įvairovės gradientas, kurį lemia įsikūrimo naujoje teritorijoje trukmė (Austerlitz ir kt., 1997). Norėdami nustatyti, ar toks gradientas egzistuoja *E. annuus* populiacijose, mes tyrėme dalies Europos invazinio arealo populiacijų genetinę įvairovę. Genetiniams tyrimams augalai buvo renkami Šveicarijos, Lenkijos, Latvijos, Lietuvos populiacijose. Iš viso buvo surinkti 16-os populiacijų augalai. Taip pat buvo iširta viena natyvi populiacija iš Kanados, New Brunswick provincijos. Ištyrus 253 augalus, didžiausia genetinė įvairovė nustatyta Šveicarijos ir Lenkijos populiacijose. PCoA ir STRUCTURE rezultatai parodė Šveicarijos ir Lenkijos populiacijų giminingumą. Kita vertus, analizės parodo ir tam tikrą šių populiacijų išsiskyrimą bei didesnę Lenkijos populiacijų heterogeniškumą. Išimtis yra Szczucyn populiacija, kuri panaši į Prienų ir Sudervės populiacijas iš Lietuvos. Mažesnė genetinė įvairovė nustatyta Lietuvos populiacijose, o visi tirtų Latvijos populiacijų augalai buvo genetiškai vienodi. Tyrimo rezultatai rodo *E. annuus* genetinės įvairovės gradientą Šveicarijos – Latvijos kryptimi ir genetinės įvairovės invazinėse populiacijose mažėjimą vienmetei šiušelei plintant šiaurės kryptimi. Toks genetinės įvairovės mažėjimas, kaip anksčiau minėta, gali būti paaiškinamas įsikūrimo vienoje ar kitoje šalyje trukme. Seniausiai įsikūrusiose invazinėse populiacijose genetinė įvairovė didesnė palyginti su vėliau įsikūrusių populiacijų genetinė įvairove. Lauber ir Wagner (1998) teigia, kad pagrindinis *E. annuus* plitimo laikotarpis Šveicarijoje buvo nuo 1770 metų iki 1870 metų. Dabar *E. annuus* augalai plačiai paplitę daugumoje didžiųjų Šveicarijos miestų, tokių kaip Ciurichas (Landolt, 2001), Bazelis (Lenzin ir kt., 2001) ir kt. Pirmą kartą Lenkijoje *E. annuus* užregistruotas 1830 metais (NOBANIS; www.nobanis.org). Tiksliai šios rūšies patekimo data į mūsų šalį nežinoma, tačiau manoma, kad į Lietuvą galėjo patekti 19 amžiaus pabaigoje. Latvijoje šios rūšies augalai pastebėti dar vėliau. Ribotas šios rūšies paplitimas Latvijoje ir monokloninė populiacijų struktūra šalyje yra pradininko efekto rezultatas. Latvijos monokloninės populiacijos yra jaunosios šioje rūšies arealo dalyje. Be to, šios populiacijos yra rūšies plitimo

rytiniu Baltijos jūros pakraščiu per Baltijos šalis bangos priekyje. Taigi mūsų tyrimai rodo, kad *E. annuus* įsikūrimo laikas ir invazijos istorija šiaurės kryptimi suformavo šios rūšies genetinės įvairovės mažėjimo gradientą.

4.3. *E. annuus* populiacijų, įsikūrusių pusiau natūraliose ir antropogenuose augavietėse, genetinių rodiklių palyginimas

Į naują vietą atkeliavusios augalų rūšys dažniausiai įsikuria žmogaus veiklos pažeistose, maisto medžiagomis turtingose augavietėse ir tik vėliau išplinta į pusiau natūralias ar natūralias bendrijas (Richardson ir kt., 2000; Dietz ir Edwards, 2006). Antropogeninis sutrikdymas pašalina daug barjerų ir dėl to nevietinėms rūšims lengviau įsiskverbti į pažeistas augavietes nei į nepažeistas (Johnstone, 1986; Hansen ir Clevenger, 2005). Pirmiausiai, antropogeninis poveikis padidina maisto medžiagų prieinamumą ir sumažina vietinių rūšių konkurenciją, suteikia nevietinių rūšių populiacijoms galimybę didėti (Hood ir Naiman, 2000; Inderjit, 2005; Catford ir kt., 2009). Antropogeninė veikla, pavyzdžiui, gatvių tiesimas, pastatų statyba, žemės ūkio darbai, pažeidžia vietines ekosistemas ir palengvina nevietinių rūšių augalų gausėjimą bei patekimą į kaimynines natūralias augavietes (Johnstone, 1986; Hansen ir Clevenger, 2005).

Antropogenuose ir natūraliose augavietėse augančių vietinių rūšių genetinės įvairovės tyrimai parodė, kad kai kuriais atvejais klonus sudarantys augalai pažeistose augavietėse pasižymi didesne genetinė įvairove palyginti su augančiais natūraliose augavietėse (Koppitz ir Köhl, 2000; Xie ir kt., 2001; Lambertini ir kt., 2008), nors kai kuriais atvejais jokių skirtumų nebuvo nustatyta (Solé ir kt., 2004). Anksčiau buvo nustatyta, kad skirtingos žemės naudojimo ir tvarkymo sąlygos gali sukelti populiacijų diferenciaciją (Kölliker ir kt., 1998; Reisch, Poschlod, 2009). Tiriant keturlapę vilkauogę (*Paris quadrifolia*) buvo nustatyta, kad klonai dominuoja sausose augavietėse, o drėgnose yra daug genetiškai skirtingų genotipų (Jacquelyn ir kt., 2005).

Dar mažai žinoma apie invazinių augalų genetinės įvairovės dinamiką, susijusią su augaviečių pokyčiais invazijos proceso metu. Svetimkraščių rūšių populiacijos naujose paplitimo teritorijose patiria daug pokyčių, kai kurie iš jų gali sukelti ir geno pakitimus (Bossdorf ir kt., 2005; Prentis ir kt., 2008). Prach ir Pyšek (1997) mano, kad invazija uždaresnėse bendrijose gali būti susijusi su genotipų, pasižymintčių padidėjusiomis konkurencingumo galimybėmis, atranka ir, kad tokios savybės,

kaip vegetatyvinis dauginimasis, gali būti privalumas. Norėdami tiksliau apibūdinti invazijos fazę, kai svetimkraštės rūšies individų skaičius didėja labai sparčiai, Dietz ir Edwards (2006) pasiūlė padalinti ją į pirminės ir antrinės invazijos fazes. Šis išplėstinis augalų invazijos modelis teigia, kad invazijos metu gyvenimo formos yra linkusios pasikeisti (Erfmeier ir kt., 2011). Dietz ir Edwards (2006) neatmeta galimybės, kad kai kurios augalo fiziologinės savybės, pavyzdžiui, tokios kaip gebėjimas gaminti alelochemikalus gali pakisti skirtingose invazijos fazėse ir netgi skirtingose augavietėse (Dietz ir Edwards, 2006). Trtikova ir kt. (2011) nustatė ženklų invazinių *Erigeron annuus* populiacijų genetinės įvairovės sumažėjimą didėjant augaviečių aukščiui virš jūros lygio. Šios rūšies populiacijos, įsikūrusios kalnuose, buvo labiau diferencijuotos palyginti su įsikūrusiomis žemumose, tačiau autoriai neaptiko adaptacijos prie šių augaviečių įrodymų. Tačiau Erfmeier ir kt. (2011) konstatavo bioekologinius uosialapio klevo (*Acer negundo*) pokyčius antrinės invazijos metu ir nustatė, kad lokali adaptacija pasireiškia šiai rūšiai plintant iš drėgnų augaviečių paupiuose ir salpose į sausesnes ruderalines antropogenuotas augavietes.

Mūsų tyrime įvertinome augavietės ir jos stabilumo įtaką *E. annuus* populiacijų genetinei ir genotipinei įvairovei. *E. annuus* priklauso sintaksonui iš *Dauco-Melilotion* sąjungos, kuri apima palaipsniui plintančias ruderalines bendrijas. Dauguma šių bendrijų įsikūrusios urbanizuotose teritorijose. Šios rūšys dažniausia kolonizuoja sutrikdytas ir potencialiai užterštas augavietes, tokias kaip pakelės, sąvartynai, tušti plotai, atliekų pašalinimo vietos, dykvietės, statybų vietos ir kitas vietas, neturinčias humuso sluoksnio (Motiekaitytė, 2001; Motiekaitytė, 2002). *E. annuus* augalai yra laikomi potencialiais švino kaupėjais ir jie gali lengvai išlikti esant augavietės taršai sunkiaisiais metalais (Yang ir kt., 2014). Vienmetė šiušelė taip pat auga ir pusiau natūraliose augavietėse, tokiose kaip sausos pievos ir ganyklos. Šių stabilių pusiau natūralių bendrijų pirminės augavietės yra įsikūrusios upių slėniuose (Motiekaitytė, 2001). Kadangi vienmetė šiušelė auga ir antropogenuotose, ir pusiau natūraliose augavietėse, tai ji yra labai tinkamas objektas genotipinės įvairovės priklausomybei nuo augavietės tirti. Mūsų tyrimo tikslas buvo ištirti antropogenuotų bei pusiau natūralių augaviečių *E. annuus* populiacijų genetinę ir genotipinę įvairovę ir palyginti skirtingų augaviečių populiacijų augalų alelopatines savybes.

Manydami, kad *E. annuus* populiacijos iš antropogenuotų ir pusiau natūralių augaviečių atspindi skirtingas invazijos fazes (Dietz ir Edwards, 2006), mes įvertino-

me šių populiacijų genetinę įvairovę. Dietz ir Edwards (2006) pabrėžė, kad vykstant svetimkraščių augalų invazijai į natūralias ar pusiau natūralias augavietes, kai kuriais atvejais stebimi genetiškai determinuotų savybių (pvz., gyvenimo formos) pokyčiai šių augalų populiacijose. Retkarčiais tai yra siejama su lytinio ir nelytinio dauginimosi santykio pokyčiais (Lambrinos, 2004; Barret ir kt., 2004; Daehler, 2005). Šiame darbe atlikti vienmetės šiušelės populiacijų iš skirtingų augaviečių tyrimai rodo, kad Lietuvos *E. annuus* populiacijoms būdinga maža genotipinė įvairovė, o vieno ar nedidelio skaičiaus klonų dominavimas patvirtina nelytinio dauginimosi vyravimą populiacijose (Ivey ir Richards, 2001). Kita vertus, retkarčiais lytiškai dauginasi dauguma apomiksės būdu besidauginančių rūšių, tarp jų ir *E. annuus*. Dauginimosi tipo pasikeitimą tokių rūšių populiacijose gali reguliuoti genetiniai veiksniai (Asker ir Jerling, 1992; Edwards ir kt., 2006). Mūsų atlikti *E. annuus* dviejų tipų augaviečių populiacijų vienodumo indekso (E) tyrimai rodo, kad monomorfinės populiacijos dažniau aptinkamos pusiau natūraliose augavietėse. Tačiau statistiškai reikšmingo skirtumo tarp abiejų augaviečių populiacijose nustatytų genotipų skaičiaus nėra ($U = 153,5$; $p = 0,66$). Paminėtina, kad keletas populiacijų (Čekoniškių, Kenos, Ozo g. Vilniuje), įsikūrusių pusiau natūraliose augavietėse, pasižymėjo gana didele genotipine įvairove, kurią galimai nulėmė lytinis dauginimasis. Iš kitos pusės, vienas genotipas dažniausiai buvo paplitęs populiacijose, įsikūrusiose antropogenuose augavietėse. Jis buvo nustatytas devyniose populiacijose, iš kurių aštuonios buvo įsikūrę žmogaus veiklos pažeistose augavietėse. Bayeso klasterinė analizė taip pat parodė skirtumus tarp šių dviejų populiacijų grupių. Populiacijos iš skirtingų augaviečių buvo linkusios grupuotis į skirtingus klasterius. Antropogenuose augaviečių populiacijos, išskyrus dvi, susigrupavo į žalia spalva pažymėtą klasterį, o daugiau nei pusė (11 populiacijų iš 21-os) pusiau natūralių augaviečių populiacijų buvo linkę grupuotis į raudonąjį klasterį. Genetinė diferenciacija tarp šių dviejų populiacijų grupių buvo nedidelė, bet statistiškai reikšminga ($F_{ST} = 0,126$; $\Phi_{RT} = 0,108$, $p < 0,001$). Nors *E. annuus* sėklų platinimas gamtoje yra gana ribotas ir dauguma jų pasklinda mažesniu nei 3 metrų atstumu (Stratton, 1994), tačiau nedidelį sėklų kiekį vėjas ar žmogus gali nunešti ir didesniais atstumais. Antropogeninių veiksnių įtakos *E. annuus* ir kai kurių kitų invazinių dekoratyvinių augalų plitimui Lietuvoje tyrimų rezultatai buvo pateikti keliose publikacijose (Zybartaitė ir kt., 2011; Vyšniauskienė ir kt., 2015; Karpavičienė ir Radušienė, 2016). Mūsų tyrimų rezultatai taip pat pa-

rodė, kad populiacijos, įsikūrusios pusiau natūraliose augavietėse, labiau diferencijuotos palyginti su antropogenuotų augaviečių populiacijomis ir šis skirtumas yra statistiškai reikšmingas. Tai gali būti susiję su atrankos poveikiu, nes vietinių augalų užimtose pusiau natūraliose augavietėse įsitvirtinti daug sunkiau ir tai galbūt pavyksta tik tam tikrų genotipų individams. Didesnę populiacijų diferenciaciją taip pat gali nulemti mažesnis *E. annuus* reprodukcinės medžiagos kiekis, patenkantis į pusiau natūralias augavietes bei pradininko efektas (Van der Toorn ir Pons, 1988; Trtikova ir kt., 2011). Tačiau, jeigu vertiname genetinę diferenciaciją tik tarp polimorfinių abiejų augaviečių populiacijų, tai genetinės įvairovės rodikliai (Hj, Br, PLP) reikšmingai nesiskiria. Taigi, klonų įvairovė daro didelę įtaką populiacijų diferenciacijai (Ivey ir Richards, 2001). Trtikova ir kt. (2011) tyrė aukščio virš jūros lygio įtaką *E. annuus* populiacijų genetinei struktūrai Alpėse ir atskleidė reikšmingą genetinės įvairovės mažėjimą didėjant altitutei ir didesnę genetinę diferenciaciją tarp aukštesnės populiacijų palyginti su žemumų populiacijomis. Autoriai taip pat nustatė, kad populiacijos aukštis virš jūros lygio nėra svarbus atrankos veiksnys genotipų paplitimui, o genetinės įvairovės pasiskirstymo skirtumus lemia kalnuose dažni izoliaciniai barjerai, retkarčiais pasitaikantis lytinis dauginimasis, atsitiktinis tam tikrų genotipų plitimas ir išgyvenimas, pradininko efektas. Mūsų atliktas populiacijų išskirtingų augaviečių tyrimas atskleidė, kad vienas *E. annuus* genotipas daug labiau paplitęs antropogenuotų augaviečių populiacijose, ir tai galbūt parodo atrankos įtaką skirtingų augaviečių populiacijų divergencijai.

Buvo pastebėtas dar vienas įdomus skirtumas tarp šių dviejų populiacijų grupių. Nustatėme, kad Nei (1972) genetinis atstumas tarp populiacijų antropogenuotose augavietėse koreliavo su geografiniu atstumu. Tačiau pusiau natūralių augaviečių populiacijose nebuvo koreliacijos tarp genetinių ir geografinių atstumų. Tai galėjo nulemti klonų plitimas, atranka, mažas genų srautas tarp populiacijų ir pradininko efektas (Sole ir kt., 2004). Ši situacija pusiau natūralių augaviečių populiacijose yra labiau tikėtina, nes svetimkraštės rūšies plitimas į gamtines ekosistemas yra siejamas su padidinta vietinių rūšių konkurencija ir mažesniu maisto medžiagų prieinamumu (Stratton, 1992; Dietz ir Edwards, 2006) ir galimai lokalia adaptacija (Erfmeier ir kt., 2011). Pavyzdžiui, lauko eksperimentai, kuriuose buvo tiriamas *Plantago* rūšių įsitvirtinimas tarp kitų žolinių augalų, parodė, kad atranka veikia jau sėklų sudygimo metu (Van der Toorn ir Pons, 1988). Tokiomis sąlygomis nelytinis rūšių daugini-

masis gali būti privalumas (Dietz ir Edwards, 2006). Statistiškai reikšminga didesnė pusiau natūralių augaviečių populiacijų genetinė diferenciacija taip pat patvirtina galimą pradininko efekto ir atrankos poveikį.

E. annuus alelopatinių savybių tyrimas, atliktas laboratorijoje, taip pat atskleidė skirtingų augaviečių augalų alelopatinių savybių skirtumus. Dietz ir Edwards (2006) savo apžvalgoje pažymėjo, kad alelopatija gali vaidinti svarbų vaidmenį antrinėje invazijos stadijoje, kai konkurencija dėl ribotų maisto medžiagų išteklių yra stipresnė. Yra tyrimų, kurie parodo, kad ši rūšis produkuoja alelochemikalus (Park ir kt., 2011; Scharfy ir kt., 2011). Įdomu tai, kad mūsų rezultatai parodė didesnę alelopatinį potencialą augalų, kilusių iš žmogaus veiklos pažeistų augaviečių, kuriuose konkurencija turėtų būti mažesnė, o maisto medžiagų prieinamumas didesnis. Iš vienos pusės, šiuos rezultatus būtų galima paaiškinti edafinėmis antropogenuotų augaviečių savybėmis. Tokios *E. annuus* augavietės dažniausiai yra vietose, kurioms būdinga padidėjusi aplinkos tarša sunkiaisiais metalais ar kitais teršalais. Stresas, kurį sukelia ši tarša, gali turėti įtakos augalų alelopatinėms savybėms (Zobel ir Clarke, 1999; Pedrol ir kt., 2006). Tirtų populiacijų augaviečių dirvožemio tyrimas parodė, kad antropogenuotų augaviečių dirvožemyje yra padidėjusi sunkiųjų metalų ir kitų elementų koncentracija. Kita vertus, kai kurie autoriai taip pat parodė, kad žolinių augalų cheminė gynyba nemažėja didėjant augimo tempui ir maisto medžiagų prieinamumui (Poorter ir Bergkotte, 1992; Almeida-Cortez ir kt., 1999; Almeida-Cortez ir Shipley, 2002). Literatūroje yra duomenų, kurie parodo, kad pavyzdžiui, *Asteraceae* šeimos žolinių augalų potencialus toksiškumas mažėja mažėjant maisto medžiagų. Šie pavyzdžiai patvirtina tai, kad augalų alelopatinės savybės yra specifiskas rūšiai požymis (Almeida-Cortez ir Shipley, 2002).

Apibendrinus gautus rezultatus galima teigti, kad šio darbo metu buvo nustatyta keletas skirtumų tarp *E. annuus* populiacijų iš antropogenuotų ir pusiau natūralių augaviečių. Šie skirtumai gali būti siejami su skirtingomis šios rūšies invazijos fazėmis ir populiacijų raida. Vis dėlto, norint įrodyti, ar šie skirtumai susiję su evoliucijos procesais, vykstančiais rūšies invazijos metu, būtini papildomi „bendro sklypo“ tyrimai.

4.4. *E. annuus* skirtingų šalių populiacijų augalų fenotipinis plastiškumas ir adaptyvumas

Invazinių augalų fenotipinis plastiškumas laikomas itin svarbiu veiksniu, padedančiu jiems prisitaikyti prie neįprastų aplinkos sąlygų ir konkuruoti su vietinėmis rūšimis (Williams ir kt., 1999). Fenotipinis plastiškumas yra reiškinys, kai tas pats genotipas skirtingomis aplinkos sąlygomis suformuoja skirtingus fenotipus (Sultan, 2000; Sakai ir kt. al., 2001; Parker ir kt., 2003; Richards ir kt., 2006). Kai kurios invazinės augalų rūšys pasižymi lokalia adaptacija, kuri padeda augalams įsitvirtinti naujoje teritorijoje. Norint nustatyti, kokios priežastys (lokali adaptacija ar fenotipinis plastiškumas) lemia *E. annuus* populiacijų tam tikrus morfologinius skirtumus, buvo panaudotas bendro sklypo metodas, t. y., 12-os populiacijų augalai buvo auginami bendrame sklype. Buvo tiriama, ar išlieka tiriamų populiacijų augalų fenotipiniai skirtumai, augalus auginant vienodomis sąlygomis. Jeigu fenotipiniai skirtumai išlieka, tai rodo, kad yra genetinė diferenciacija pagal požymį (-ius) lemiančius lokusus. Tai ir yra lokali adaptacija. Buvo matuojamas augalo aukštis, svoris, stiebo storis 40 cm aukštyje, lapo ilgis bei plotis, graižo skersmuo, nustatomas stiebų ir pagrindinio stiebo šakų skaičius. Dviejų metų rezultatų analizė rodo, kad *E. annuus* būdingas didelis fenotipinis plastiškumas ir jis matyt vaidina svarbiausią vaidmenį rūšiai įsikuriant naujame areale. Vis dėlto buvo nustatyti ir statistiškai reikšmingi skirtumai tarp kai kurių populiacijų morfometrinių rodiklių vidurkių pagal augalų svorį, graižo skersmenį, stiebų skaičių, pagrindinio stiebo papildomų šakų skaičių, lapo ilgį ir plotį. Tai rodo, kad dėl gamtinės atrankos kai kuriose populiacijose galbūt įvyko genetiniai pokyčiai, kurie nulėmė adaptaciją prie vietos sąlygų. Literatūros duomenys rodo, kad lokali adaptacija yra dažnas reiškinys plačiai paplitusiose rūšyse (Joshi ir kt., 2001; Lee, 2002; Santamaria ir kt., 2003; Bischoff ir kt., 2006; Macel ir kt., 2007; Whitney ir Gabler, 2008). Literatūroje gausu tyrimų, iliustruojančių fenotipinio plastiškumo svarbą invazijos procese (Marshall ir Jain, 1968; Sultan, 2001; Parker ir kt., 2003; Callaway ir kt., 2003; Daehler, 2003; Schlichting, 2004; Pigliucci, 2005; Hulme, 2008; Leiblein-Wild ir Tackenberg, 2014).

Tikėtina, kad rūšies introdukcijų skaičius yra svarbus veiksnys, kuris nulemia, ar fenotipinis plastiškumas, ar lokali adaptacija suteiks pranašumą invazinei augalų rūšiai. Kai introdukcija vyksta daug kartų, rūšis, turėdama didesnę genetinę įvairovę, gali reaguoti į atranką, todėl manoma, kad būtent lokali adaptacija yra tas mecha-

nizmas, kuris padeda rūšiai įsitvirtinti ir plisti. Jei rūšis buvo introdukuota vieną ar keletą kartų, tai dominuos vienintelis ar keli genotipai ir šiuo atveju rūšiai įsitvirtinti bus svarbesnis fenotipinis plastiškumas (Parker ir kt., 2003; Kawecki ir Ebert, 2004). Kaip minėta, vienmetė šiušėlė, galbūt, buvo atvežta kaip dekoratyvus augalas, todėl galime daryti prielaidą, kad ji buvo atvežama pakartotinai, o tai yra palanku lokaliai adaptacijai vykti. Visgi mūsų atliktas bendro sklypo eksperimentas atskleidė, kad tirtoms *E. annuus* populiacijoms būdingas didelis fenotipinis plastiškumas ir tik tarp kai kurių populiacijų morfometrinių rodiklių vidurkių buvo nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai, rodantys galimą lokalią adaptaciją. Tam, galbūt, įtakos galėjo turėti per trumpas laikas, per kurį įvyktų genetiniai pokyčiai, nulemiantys adaptaciją prie vietos sąlygų ir tai, kad į naują teritoriją dažniausiai patenka nedidelis svetimkraštės rūšies augalų skaičius. Keimu ir Fischer (2008) išsamiai išanalizavo veiksnius, kurie lemia lokalią adaptaciją. Jie nustatė, kad itin svarbų vaidmenį šiuo atveju vaidina populiacijos dydis. Dėl įvairių priežasčių (mažesnio mutacijų kiekio, inbreditės depresijos, „butelio kaklelio“ efekto, pradininko efekto) nedidelės populiacijos turi mažą potencialą prisitaikyti prie vietinių sąlygų.

Augalų invazijos procesui svarbi yra ir rūšies fenologija, nes ji gali padidinti invazyvumą (Godoy ir kt., 2009; Wolkovich ir Cleland, 2011). Literatūroje nurodoma, kad invaziniam augalams būdinga ir rūšių fenologinė variacija (Hodgins ir Rieseberg, 2011; Leiblein-Wild ir Tackenberg, 2014). Pastebėta, kad invaziniai augalai išsprogsta anksčiau arba lapus numeta vėliau nei vietinės rūšys (Dunn Chace, 2013). Pavyzdžiui, Trtikova (2008) nustatė, kad kalnuose augančio *E. annuus* gyvenimo ciklo pailgėjimas yra būtinas išgyvenimui ir pasidauginimui. Todėl bendro sklypo eksperimente mes tyrėme ir skirtingos kilmės populiacijų augalų fenologines vystymosi fazes. Tad norint patikrinti, ar yra fenologiniai skirtumai tarp atskirų *E. annuus* populiacijų, jos buvo auginamos bendrame sklype. Šio eksperimento metu dvejus metus trukusių fenologinių stebėjimų rezultatai parodė, kad vienmetės šiušėlės skirtingų šalių populiacijų augalai nesiskyrė statistiškai reikšmingai pagal dienų skaičių iki atitinkamų fenologinių fazių pradžios.

Ieškant veiksnių, galinčių padidinti invazyvumą, atliekama daug tyrimų, kuriuose palyginami įvairūs vietinių ir invazinių rūšių rodikliai (Daehler, 2003; Van Kleunen ir kt., 2010). Be morfologinių ar fenologinių rodiklių, dažnai vertinami augalų augimo greičio skirtumai. Todėl, atliekant bendro sklypo eksperimentą, be morfologinių

matavimų ir fenologinių stebėjimų periodiškai buvo matuojamas ir individų aukštis. Išanalizavus duomenis, matyti, kad auginant Lietuvos, Lenkijos, Šveicarijos, Kanados populiacijų augalus bendrame sklype, vienodomis sąlygomis, vidutinis stiebo aukščio prieaugis per 10 dienų varijuoja. Mažiausias jis buvo Kanados New Brunswick (CA) populiacijos augalų. Pagal šį rodiklį nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp CA populiacijos ir daugelio Lietuvos (LT1-LT4) bei Šveicarijos populiacijų (CH2, CH3). Iš Lietuvos populiacijų labiausiai išsiskyrė LT5, kurios augalų prieaugis per dešimt dienų buvo mažiausias. Daehler (2003) apžvalgoje, remiantis 79-ių rūšių vietinių ir invazinių populiacijų palyginimu, parodoma, kad nėra statistiškai reikšmingo skirtumo tarp invazinių ir vietinių rūšių populiacijų augimo greičio. Tačiau yra atlikta daug darbų, kurių rezultatai rodo, kad introdukuoti augalai auga greičiau palyginti su tos pačios rūšies augalais iš natūralaus paplitimo vietų (Blossey ir Notzold, 1995; Pattison ir kt., 1998; Willis ir Blossey, 1999; Bastlova– Hanzelyova, 2001; Siemann ir Rogers, 2003). Tokius skirtumus galima apsprendžia augalo genetinės galimybės ir tik dalinai gali būti paaiškinami klimato, į kurį pateko introdukuotas augalas, įtaka. Kaip jau minėta, mūsų atlikto eksperimento rezultatai rodo, kad kai kurios Lietuvos ir Šveicarijos *E. annuus* populiacijos iš invazinio rūšies arealo pasižymi statistiškai reikšmingai didesniu vidutiniu aukščio prieaugiu palyginti su vietine populiacija iš Kanados (New Brunswick). Tačiau daryti griežtus apibendrinimus būtų nekorektiška, nes eksperimentas vyko tik du metus, o vietinį arealą atstovavo tik viena populiacija. Vis dėlto šie mūsų gauti rezultatai parodo *E. annuus* skirtingų populiacijų augalų augimo greičio skirtumus, kurie atspindi didelį šios rūšies fenotipinį plastiškumą.

IŠVADOS

1. *Erigeron annuus* populacijoms Lietuvoje būdinga palyginti nedidelė RAPD ir ISSR lokusų genetinė įvairovė ir didelė genetinė diferenciacija, kurią galėjo nulemti pradininko efektas.
2. Nustatyti du *E. annuus* Lietuvos populacijų tipai. Pirmajam tipui priklauso plačiai paplitusio pagrindinio klono ir jam giminingos populiacijos, antrajam – polimorfinės. Tai, kad pusė tirtų populacijų yra monomorfinės, o polimorfinės sudaro nedidelis genotipų skaičius, rodo, kad *E. annuus* populiacijose vyrauja nelytinis dauginimasis.
3. *E. annuus* plintant iš Vakarų Europos rytiniu Baltijos pakraščiu šiaurės kryptimi jos populacijų molekulinė genetinė įvairovė mažėja.
4. Nustatyta statistškai reikšminga genetinė diferenciacija ($\Phi_{i_{RT}} = 0,108$, $p < 0,001$; $F_{ST} = 0,126$) tarp *E. annuus* populacijų iš pusiau natūralių ir antropogenuotų augaviečių. *E. annuus* antropogenuotų augaviečių populiacijos mažiau genetiškai diferencijuotos ($F_{ST} = 0,338$) palyginti su pusiau natūralių augaviečių populacijų genetinė diferenciacija ($F_{ST} = 0,586$), ($U = 4594$, $p = 0,0001$). Antropogenuotų populacijų augalai taip pat pasižymėjo didesniu alelopatiniu potencialu. Tai rodo, kad yra genetiniai ir fiziologiniai skirtumai tarp skirtingose invazijos fazėse esančių populacijų augalų.
5. Nors *E. annuus* būdingas didelis fenotipinis plastiškumas, leidžiantis rūšiai prisitaikyti prie naujų sąlygų, tačiau kai kurioms populacijoms būdinga ir galimai genetiškai sąlygota lokali adaptacija.

MOKSLINIŲ DARBŲ SĄRAŠAS

Moksliniai straipsniai leidiniuose turinčiuose citavimo indeksą ir referuojamuose Mokslinės informacijos instituto duomenų bazėje ISI Web of Science:

1. Patamsytė J, Rančelis V, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, **Tunaitienė V**, Naugžemys D, Vaitkūnienė V, Žvingila D. Clonal structure and reduced diversity of the invasive alien plant *Erigeron annuus* in Lithuania. *Central European Journal of Biology*. 2013;8(9):898–911.
2. Patamsytė J, Čėsniėnė T, Naugžemys D, Kleizaitė V, **Tunaitienė V**, Vaitkūnienė V, Rančelis V, Mikaliūnaitė R, Žvingila D. Different habitats show similar genetic structure of *Bunias orientalis* L. (Brassicaceae) in Lithuania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2013;41(2):396–403.

Moksliniai straipsniai recenzuojamuose leidiniuose

1. **Tunaitienė V**, Naugžemys D, Patamsytė J, Žvingila D. Gradient of genetic diversity of *Erigeron annuus* in the part of invasive European range. *Botanica Lithuanica*. 2015;21(2):8188.
2. **Tunaitienė V**, Patamsytė J, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, Naugžemys D, Rančelis V, Žvingila D. Genotypic diversity and clonal structure of *Erigeron annuus* (Asteraceae) in Lithuania. *Julius Kuhn Archiv*. 2014;443:200–207.
3. **Tunaitienė V**, Patamsytė J, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, Naugžemys D, Rančelis V, Žvingila D. Comparison of genetic diversity in two alien plant species. *Julius Kuhn Archiv*. 2012;434(2):679–686.

ŽODINIAI PRANEŠIMAI

Comparison of genetic diversity in two alien plant species (*Erigeron annuus* and *Bunias orientalis*). *Bioaitis. Gamtos ir gyvybės mokslų perspektyvos*. 2012. 2012 12 05. Vilnius. Lietuva.

STENDINIAI PRANEŠIMAI

1. Genetic diversity of some Polish *Erigeron annuus* populations. **Tunaitienė V**, Patamsytė J, Žvingila D. Mokslas Gamtos mokslų fakultete (8), Vilnius. Lietuva. 2014 10 03.
2. Assessment of the allelopathic potential of invasive species daisy fleabane. **Tunaitienė V**, Krivičiūtė K, Patamsytė J, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, Žvingila D. The Vital Nature Sign (8). Kaunas. Lietuva. 2014 10 24-26.
3. Molecular approach to study clones of invasive apomictic plant species *Erigeron annuus* in Lithuania. **Tunaitienė V**, Patamsytė J, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, Naugžemys D, Vaitkūniėnė V, Rančelis V, Žvingila D. Современное состояние, тенденции развития, рациональное использование и сохранение биологического разнообразия растительного мира. Minskas. Baltarusija. 2014 09 23-26.
4. Genotypic diversity and clonal structure of *Erigeron annuus* (*Asteraceae*) in Lithuania. **Tunaitienė V**, Patamsytė J, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, Naugžemys D, Vaitkūniėnė V, Rančelis V, Žvingila D. 26th German Conference on Weed Biology and Weed Control. Braunschweigas. Vokietija. 2014 03 11-13.
5. Comparison of geographically remote populations of invasive plant species *Erigeron annuus*. **Tunaitienė V**, Patamsytė J, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, Naugžemys D, Vaitkūniėnė V, Rančelis V, Žvingila D. 5th Baltic Genetics Congress. Kaunas. Lietuva. 2012 10 19-22.
6. The impact of reproduction strategy of DNA polymorphism in invasive species populations. Tunaitienė V. Mokslas Gamtos mokslų fakultete (7). Vilnius. Lietuva. 2012 10 05.
7. Comparison of genetic diversity in two alien plant species. **Tunaitienė V**, Patamsytė J, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, Naugžemys D, Vaitkūniėnė V, Rančelis V, Žvingila D. 25th German Conference on Weed Biology and Weed Control. Braunschweigas. Vokietija. 2012 03 13-15.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Ainouche M, Fortune M, Salmon A, Parisod C, Grandbastien MA, Fukunaga M, Ricou M, Misset MT. Hybridization, polyploidy and invasion: lessons from *Spartina* (*Poaceae*). *Biological Invasions*. 2009;11:1159–1173.
2. Allendorf FW, Lundquist LL. Introduction: Population Biology, Evolution, and Control of Invasive Species. *Conservation Biology*. 2003;17(1):24–30.
3. Almeida-Cortez JS, Shipley B, Arnason JT. Do plant species with high relative growth rates have poorer chemical defenses? *Functional Ecology*. 1999;13:819–827.
4. Almeida-Cortez JS, Shipley B. No significant relationship exists between seedling relative growth rate under nutrient limitation and potential tissue toxicity. *Functional Ecology*. 2002;16:122–127.
5. Anderson E, Stebins GI. Hybridization as an evolutionary stimulus. *Evolution*. 1954;8:378–388.
6. Anderson E. Hybridization of the habitat. *Evolution*. 1948;2:1–9.
7. Asker S, Jerling L. Apomixis in plants. Florida: CRC Press; 1992.
8. Austerlitz F, Jung-Miller B, Godelle B, Gouyon PH. Evolution of coalescence times, genetic diversity and structure during colonization. *Theoretical Population Biology*. 1997;51:148–164.
9. Awasthi AK, Nagaraja GM, Naik GV, Kanginakudra S, Thangavelu K, Nagaraju J. Genetic diversity and relationships in mulberry (genus *Morus*) as revealed by RAPD and ISSR marker assays. *BMC Genetics*. 2004;5:1–9.
10. Babula P, Vaverkova V, Poborilova Z, Ballova L, Masarik M, Provaznik I. Phytotoxic action of naphthoquinone juglone demonstrated on lettuce seedling roots. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2014;84:78–86.
11. Baker HG. Characteristics and mode of origin of weeds. In: Baker HG, Stebbins GL, editors. *The genetics of colonizing species*. New York: Academic Press; 1965. p. 147–172.
12. Baker HG. The evolution of weeds. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 1974;5:1–24.
13. Baker SA, Dyer RJ. Invasion genetics of *Microstegium vimineum* (*Poaceae*) within the James River Basin of Virginia, USA. *Conservation Genetics*. 2011;12:793–803.
14. Barret SCH, Colautti RI, Eckert CG. Plant reproductive systems and evolution during biological invasions. *Molecular Ecology*. 2008;17:373–383.

15. Barret SCH, Maurice S, Bourgeois TE, Strasberg D. Altitudinal variation in fertility and vegetative growth in the invasive plant *Rubus alceifolius* Poirlet (*Rosaceae*), on Reunion island. *Plant Ecology*. 2004;172:265–273
16. Barrett SCH, Husband BC. Variation in outcrossing rate in *Eichhornia paniculata*: the role of demographic and reproductive factors. *Plant Species Biology*. 1990;5:41–56.
17. Bastlova-Hanzelyova, D. Comparative study of native and invasive populations of *Lythrum salicaria*: population characteristics, site and community relationships. In: Brundu G, Brock J, Camarda I, Child L, Wade M, editors. *Plant Invasions: Species Ecology and Ecosystem Management*. The Netherlands: Backhuys; 2001. p. 33–40.
18. Becker T, Dietz H, Billeter R, Buschmann H, Edwards PJ. Altitudinal distribution of alien plant species in the Swiss Alps. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*. 2005;7:173–183.
19. Byers DL, Quinn JA. Demographic variation in *Alliaria petiolata* (*Brassicaceae*) in four contrasting habitats. *Journal of the Torrey Botanical Society*. 1998;125:138–149.
20. Bierzychudek P. Environmental Sensitivity of Sexual and Apomictic *Antennaria*: Do Apomicts Have General-Purpose Genotypes? *Evolution*. 1989;43(7):1456–1466.
21. Bischoff A, Crémieux L, Smilauerova M, Lawson CS, Mortimer SR, Dolezal J, Lanta V, Edwards AR, Brook AJ, Macel M, Leps J, Steinger T, Müller-Schärer H. Detecting local adaptation in widespread grassland species—the importance of scale and local plant community. *Journal of Ecology*. 2006;94:1130–1142.
22. Blair AC, Weston LA, Nissen SJ, Brunk GR, Hufbauer RA. The importance of analytical techniques in allelopathy studies with the reported allelochemical catechin as an example. *Biological invasions*. 2009;11(2):325–332.
23. Blossey B, Notzold R. Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. *Journal of Ecology*. 1995;83:887–889.
24. Bogatek R, Gniazdowska A. ROS and Phytohormones in Plant-Plant Allelopathic Interaction. *Plant Signaling & Behavior*. 2007;2(4):317–318.
25. Bossdorf O, Auge H, Lafuma L, Rogers WE, Siemann E, Prati D. Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia*. 2005;144:1–11.
26. Brown BJ, Mitchell RJ. Competition for pollination: effects of pollen of an invasive plant on seed set of a native congener. *Oecologia*. 2001;129:43–49.
27. Brückner DJ, Szabo LG. New approaches to allelopathy. *Kitaibelia*. 2001;4(1):93–106.

28. Budde KB, Gallo L, Marchelli P, Mosner E, Liepelt S, Ziegenhagen B. Wide spread invasion without sexual reproduction? A case study on European willows in Patagonia, Argentina, *Biological Invasions*. 2011;13:45–54.
29. Butchart SHM, Walpole M, Collen B, Strien A, Scharlemann JPW, Almond REA, Baillie JEM, Bomhard B, Brown C, Bruno J, Carpenter KE, Carr GM, Chanson J, Chenery AM, Csirke J, Davidson NC, Dentener F, Foster M, Galli A, Galloway JN, Genovesi P, Gregory RD, Hockings M, Kapos V, Lamarque JF, Leverington F, Loh J, Geoch MA, Rae L, Minasyan A, Morcillo MH, Oldfield TEE, Pauly D, Quader S, Revenga C, Sauer JR, Skolnik B, Spear D, Smith DS, Stuart SN, Symes A, Tierney M, Tyrrell TD, Vié JC, Watson R. Global Biodiversity: Indicators of Recent Declines. *Science*. 2010;328:1164–1168.
30. Callaway RM, Aschechoug ET. Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science*. 2000;290:521–523.
31. Callaway RM, Pennings SC, Richards CL. Phenotypic plasticity and interactions between plants. *Ecology*. 2003;84(5):1115–1128.
32. Callaway RM, Ridenour WM. Novel weapons: a biochemically based hypothesis for invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2004;2:436–433.
33. Callaway RM, Thelen GC, Rodriguez A, Holben WE. Soil biota and exotic plant invasion. *Nature*. 2004;427:731–733.
34. Catford JA, Jansson R, Nilsson C. Reducing redundancy in invasion ecology by integrating hypotheses into a single theoretical framework. *Diversity and Distributions*. 2009;15(1):22–40.
35. Chapman H, Robson B, Pearson ML. Population genetic structure of a colonising, triploid weed, *Hieracium lepidulum*. *Heredity*. 2004;92:182–188.
36. Chou CH. Introduction to allelopathy. In: Reigosa MJ, Pedrol N, González L, editors. *Allelopathy: A physiological process with ecological implications*. Dordrecht: Springer; 2006. p. 1–9.
37. Clements DR, Ditommaso A. Climate change and weed adaptation: Can evolution of invasive plants lead to greater range expansion than forecasted? *Weed Research*. 2011;51(3):227–240.
38. Clements EJ, Foster MC. *Alien plants of the British Isles*. London: Botanical Society British Isles; 1994.
39. Coart E, Glabeke SV, Petit RJ, Bockstaele EV, Ruiz IR. Range wide versus local patterns of genetic diversity in hornbeam (*Carpinus betulus* L.). *Conservation Genetics*. 2005;6:259–273.

40. Colautti RI, Ricciardi A, Grigorovich IA, Mackisaac HJ. Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology letters*. 2004;7(8):721–733.
41. Colautti RI. Propagule pressure: a null model for biological invasions. *Biological Invasions*. 2006;8:1023–1037.
42. Cronquist A. 1980. Vascular Flora of the southeastern United States. Vol. I. Astera-ceae. Chapel Hill: The University of North Carolina Press; 1980.
43. Cronquist A. Intermountain flora: vascular plants of the Intermountain West, USA. Bronx: The New York Botanical Garden; 1995.
44. Csiszár Á. Allelopathic Effects of Invasive Woody Plant Species in Hungary. *Acta Silvatica & Lignaria Hungarica*. 2009;5:7–9.
45. D'Antonio CM, Levine JM, Thomsen M. Propagule supply and resistance to invasion; a California botanical perspective. *Journal Mediterranean Ecology*. 2001;2:233–245.
46. Daehler CC. Performance comparisons of co-occurring native and alien plants: Implications for conservation and restoration. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 2003;34:183–211.
47. Daehler CC. Upper-montane plant invasions in the Hawaiian Islands: patterns and opportunities. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 2005;7:203–216.
48. Danusevičius J, Gabrilavičius R, Danusevičius D. Quality of red oak (*Quercus rubra* L.) stands on abandoned land. *Baltic Forestry*. 2002;8:51–56.
49. Darling JA, Baglei MJ, Roman J, Tepolt CK, Gellers JB. Genetic patterns across multiple introductions of the globally invasive crab genus *Carcinus*. *Molecular Ecology*. 2008;17:4992–5007.
50. Dietz H, Edwards PJ. Recognition that causal processes change during plant invasion helps explain conflicts in evidence. *Ecology*. 2006;87:1359–1367.
51. Dietz H, Fischer M., Schmid B. Demographic and genetic invasion history of a 9-year-old roadside population of *Bunias orientalis* L. (*Brassicaceae*). *Oecologia*. 1999;120(2):225–234.
52. Dlugosch KM, Parker IM. Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology*. 2008;17:431–449.
53. Doyle JJ, Doyle JL. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*. 1990;12:3–15.

54. Dong LJ, Sun ZK, Gao Y, He WM. Two-year interactions between invasive *Solidago canadensis* and soil decrease its subsequent growth and competitive ability. *Plant Ecology*. 2015;8(6):617–622.
55. Dukes J.S. Comparison of the effect of elevated CO₂ on an invasive species (*Centaurea solstitialis*) in monoculture and community settings. *Plant Ecology*. 2002;160:225–234.
56. Dunn Chace T. How to eradicate invasive plants. Portland: Timber Press; 2013.
57. Earl DA, von Holdt BM. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*. 2012;4:359–361.
58. Edwards PJ, Frey D, Bailer H, Baltisberger M. Genetic variation in native and invasive populations of *Erigeron annuus* as assessed by RAPD markers. *International Journal of Plant Sciences*. 2006;167:93–101.
59. Eldridge MDB, Kinnear JE, Zenger KR, McKenzie LM, Spencer PBS. Genetic diversity in remnant mainland and „pristine“ island populations of three endemic Australian macropodids (*Marsupialia*): *Macropus eugenii*, *Lagorchestes hirsutus* and *Petrogale lateralis*. *Conservation Genetics*. 2004;5:325–338.
60. Ellstrand NC, Roose ML. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*. 1987;74:123–131.
61. Ellstrand NC, Schierenbeck KA. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97(13):7043–7050.
62. Ellstrand NC. Evolution of invasiveness in plants following hybridization. *Biological Invasions*. 2009;11:1089–1091.
63. Elton CS. The ecology of invasions by animals and plants. London: Methuen; 1958.
64. Erfmeier A, Böhnke M, Bruelheide H. Secondary invasion of *Acer negundo*: the role of phenotypic responses versus local adaptation. *Biological Invasions*. 2011;13:1599–614.
65. Essl F, Rabitsch W. Neobiota in Österreich. Wien : Federal Environment Agency; 2002.
66. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*. 2005;14:2611–2620.
67. Ewel JJ, O’Dowd DJ, Bergelson J, Daehler CC, D’antonio CM, Gomez LD, Gordon DR, Hobbs RJ, Holt A, Hopper KR, Hughes CE, LaHart M, Leakey RRB, Lee WG, Loope LL, Lorence DH, Louda SM, Lugo AE, McEvoy PB, Richardson DM, Vitousek PM. Deliberate introductions of species: research needs. *BioScience*. 1999;49:619–630.

68. Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondria DNA restriction sites. *Genetics*. 1992;131:479–491.
69. Fabbro DC, Guesewell S, Prati D. Allelopathic effects of three plant invaders on germination of native species: a field study. *Biological Invasions*. 2014;16:1035–1042.
70. Facon B, Genton BJ, Shykoff J, Jarne P, Estoup A, David P. A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology and Evolution*. 2008;21:130–135.
71. Fagerlind, F. Macrogametophyte formation in two agamosperous *Erigeron* species. *Acta Horti Bergiani*. 1947;14:221–247.
72. Falush D, Stephens M, Pritchard JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*. 2007;7:574–578.
73. Fernald ML, Wiegand KM. A northern variety of *Erigeron ramosus*. *Rhodora*. 1913;15:59–61.
74. Fernald ML. Three transfers in the *Compositae*. *Rhodora*. 1942;44:340.
75. Ferreira TGT, Penha HA, Zucchi MI. Outcrossing rate in sweet passion fruit based on molecular markers. *Plant Breeding*. 2010;129:727–730.
76. Fitzpatrick BM, Fordyce JA, Niemiller ML, Reynolds RG. What can DNA tell us about biological invasions? *Biological Invasions*. 2012;14:245–253.
77. Foster BL, Dickson TL, Murphy CA, Karel IS, Smith VH. Propagule pools mediate community assembly and diversity-ecosystem regulation along a grassland productivity gradient. *Journal of Ecology*. 2004;92:435–49.
78. Foxcroft LC, Rouget M, Richardson DM, Fadyen SM. Reconstructing 50 years of *Opuntia stricta* invasion in the Kruger National Park, South Africa: environmental determinants and propagule pressure. *Diversity and Distributions*. 2004;10:427–437.
79. Frey D, Baltisberger M, Edwards PJ. Cytology of *Erigeron annuus* s.l. and its consequences in Europe. *Botanica Helvetica*. 2003;113:1–14.
80. Frey D. Patterns of variation within the *Erigeron annuus* complex in the United States and Europe [dissertation]. Zurich: Swiss Federal Institute of Technology; 2003.
81. Fridley JD, Stachowicz JJ, Naeem S, Sax DF, Seabloom EW, Smith MD, Stohlgren TJ, Tilman D, Von Holle, B. The invasion paradox: reconciling pattern and process in species invasions. *Ecology*. 2007;88:3–17.
82. García-Ramos G, Rodríguez D. Evolutionary speed of species invasions. *Evolution*. 2002;56(4):661–668.

83. Gaudeul M, Giraud T, Kiss L, Shykoff JA. Nuclear and chloroplast microsatellites show multiple introductions in the worldwide invasion history of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*. *PLoS ONE*. 2011;6(3):17658.
84. Godoy O, Richardson DM, Valladares F, Castro-Diez P. Flowering phenology of invasive alien plant species compared with native species in three Mediterranean-type ecosystems. *Annals of Botany*. 2009;103(3):485–494.
85. Gogoi S, Argade NP. A facile two-step chemoenzymatic access to natural germination inhibitor (+)-erigeronic acid A. *Tetrahedron*. 2006; 62(13): 2999–3003.
86. Grotkopp E, Rejmánek M, Rost TL. Toward a causal explanation of plant invasiveness: seedling growth and life-history strategies of 29 pine (*Pinus*) species. *American Naturalist*. 2002;159:396–419.
87. Gudžinskas Z, Sinkevičienė Z. Distribution, biology and naturalization of *Impatiens glandulifera* Royale (*Balsaminaceae*) in Lithuania. *Botanica Lithuanica*. 1995;1:21–33.
88. Gudžinskas Z. Alien plant species. In: Vegetation of the Region of Aukštadvaris. Rašomavičius V, editor. Vilnius: Botanikos institutas; 1994. p. 85-99.
89. Gudžinskas Z. Conspectus of alien plant species of Lithuania. *Botanica Lithuanica*. 1997;3:335–366.
90. Gulzar A, Siddiqui MB. Allelopathic effect of aqueous extracts of different part of *Eclipta alba* (L.) Hassk. on some crop and weed Plants. *J. Journal of Agricultural Extension and Rural Development*. 2014;6(1):55–60.
91. Guo WL, Gong L, Li YD, Li FX, Zhao SP, Liu B. Genomic instability in phenotypically normal regenerants of medicinal plant *Codonopsis lanceolata* Benth. et Hook. f., as revealed by ISSR and RAPD markers. *Cell Biology and Morphogenesis*. 2006;25(9):896–906.
92. Gustafsson, Å. Apomixis in Higher Plants. Part I. The Mechanism of Apomixis. Lunds Universitets Årsskrift. 1946;42 (3):1–67.
93. Halliday G. *Erigeron* L. In: Tutin TG, Heywood WH, Burges NA, Valentine DH editors. *Flora Europaea*. Cambridge-London-New York-Melbourne: Cambridge University Press; 1976. p. 116–120.
94. Hancock JF, Wilson RE. Biotype selection in *Erigeron annuus* during old field succession. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 1976;103:122–125.
95. Hansen MJ, Clevenger AP. The influence of disturbance and habitat on the presence of non-native plant species along transport corridors. *Biological Conservation*. 2005;125;249–259.
96. Heger T, Jeschke JM. The enemy release hypothesis as a hierarchy of hypotheses. *Oikos*. 2014;123:741–750.

97. Hodgins KA, Rieseberg L. Genetic differentiation in life-history traits of introduced and native common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) populations. *Journal of Evolutionary Biology*. 2011;24(12):2731–2749.
98. Holm L, Pancho JV, Herberger JP, Plucknett DL. A geographical atlas of world weeds. New York-Chichester-Brisbane-Toronto: John Wiley & Sons; 1979.
99. Hood WG, Naiman RJ. Vulnerability of riparian zones to invasion by exotic vascular plants. *Plant Ecology*. 2000;148:105–114.
100. Hou YC, Yan ZH, Zheng YL. Genetic diversity in barley from west China based on RAPD and ISSR analysis. *Barley Genetics Newsletter*. 2005;35:9–22.
101. Hulme PE, Pyšek, P, Nentwig W, Vila M. Will threat of biological invasions unite the European Union? *Science*. 2009;324:40–41.
102. Hulme PE. Biological invasions in Europe: Drivers Pressures, States Impacts and Responses. In: Hester R, Harrison RM, editors. Biodiversity under threat. Cambridge: Royal society of chemistry; 2007. p. 56–80.
103. Husband BC, Barrett SCH. Colonization history and population genetic structure of *Eichhornia paniculata* in Jamaica. *Heredity*. 1991;66:287–296.
104. Huziwara Y. Karyotype Analysis in Some Genera of *Compositae* VI: The Chromosomes of Some *Erigeron* Species. *Caryologia*. 1958;11(2):158–164.
105. Yang W, Li H, Zhang T, Sen L, Ni W. Classification and identification of metal-accumulating plant species by cluster analysis. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014;21:10626–10637.
106. Yilmaz KU, Kargi SP, Dogan Y, Kafkas S. Genetic diversity analysis based on ISSR, RAPD and SSR among Turkish Apricot Germplasm in Iran Caucasian ecogeographical group. *Scientia Horticulturae*. 2012;138:138–143.
107. Ikegami H, Nogata H, Hirashima K, Awamura M, Nakahara T. Analysis of genetic diversity among European and Asian fig varieties (*Ficus carica* L.) using ISSR, RAPD, and SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2009;56(2009):201–209.
108. Inderjit. Plant invasions: Habitat invasibility and dominance of invasive plant species. *Plant and Soil*. 2005;277:1–5.
109. Yuan Y, Wang B, Zhang S, Tang J, Tu C, Hu S, Yong JWH, Chen X. Enhanced allelopathy and competitive ability of invasive plant *Solidago canadensis* in its introduced range. *Journal of Plant Ecology*. 2013;6(3):253–263.
110. Ivey CT, Richards JH. Genotypic diversity and clonal structure of everglades sawgrass, *Cladium jamaicense* (Cyperaceae). *International Journal of Plant Science*. 2001;162:1327–1335.

111. Jacquemyn H, Brys R, Honnay O, Hermy M, Roldán-Ruiz I. Local forest environment largely affects below-ground growth, clonal diversity and fine-scale spatial genetic structure in the temperate deciduous forest herb *Paris quadrifolia*. *Molecular Ecology*. 2005;14(14):4479–4488.
112. Jeschke JM, Genovesi P. Do biodiversity and human impact influence the introduction or establishment of alien mammals? *Oikos*. 2011;120:57–64.
113. Jeschke JM, Gómez Aparicio L, Haider S, Heger T, Lortie CL, Pyšek P, Strayer DL. Taxonomic bias and lack of cross-taxonomic studies in invasion biology. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2012;10:349–350.
114. Jeschke JM, Strayer DL. Invasion success of vertebrates in Europe and North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(20):7198–7202.
115. Jeschke JM. Across islands and continents, mammals are more successful invaders than birds. *Diversity Distribution*. 2008;14:913–916.
116. Johnstone IM. Plant invasion windows: a time based classification of invasion potential. *Biological Review*. 1986;61:369–394.
117. Joshi J, Schmid B, Caldeira MC, Dimitrakopoulos PG, Good J, Harris R, Hector A, Huss-Danell K, Jumpponen A, Minns A, Mulder CPH, Pereira JS, Prinz A, Scherer-Lorenzen M, Siamantziouras ASD, Terry AC, Troumbis AY, Lawton JH. Local adaptation enhances performance of common plant species. *Ecology Letters*. 2001;4(6):536–544.
118. Junhong L, Shengni T, Weiwei D. Preliminary Study on the Allelopathy of Alien *Erigeron annuus*. *Agricultural Science Bulletin*. 2007;17.
119. Kamal J. Impact of allelopathy of sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots extract on physiology of wheat (*Triticum aestivum* L.). *African Journal of Biotechnology*. 2011;10(65):14465–14477.
120. Karpavičienė B, Radušienė J. Morphological and anatomical characterization of *Solidago ×niederederi* and other sympatric *Solidago* species. *Weed Science*. 2016;64:61–70
121. Kathleen SK, Kurylo JS, Endress AG, Stewart JR, Reich PB. *Biological Invasions*. 2007;9:925–937.
122. Kawecki TJ, Ebert D. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*. 2004;7:1225–1241.
123. Keane RM, Crawley MJ. Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*. 2002;17(4):64–170.

124. Keeley JE. Allelopathy. *Ecology*. 1988;69:293–294.
125. Kelager A, Pedersen J, Bruun H. Multiple introductions and no loss of genetic diversity: invasion history of Japanese Rose, *Rosa rugosa*, in Europe. *Biological Invasions*. 2013;15:1125–1141.
126. Khalik KA, El-Twab MA, Helmey R. Genetic diversity and relationships among Egyptian Galium (Rubiaceae) and related species using ISSR and RAPD markers. *Biologia*. 2014;69(3):300–310.
127. Kinlan BP, Hastings A. Rates of population spread and geographic range expansion: what exotic species tell us. In: Sax DF, Stachowicz J, Gaines SD, editors. *Species invasions: insights into ecology, evolution, and biogeography*. Sunderland: Sinauer; 2005. p. 495.
128. Kjørner S, Såstad M, Taberlet P, Brochmann C. Amplified fragment length polymorphism versus random amplified polymorphic DNA markers: clonal diversity in *Saxifraga cernua*. *Molecular Ecology*. 2004;13:81–86.
129. Kliber A, Eckert CG. Interaction between founder effect and selection during biological invasion in an aquatic plant. *Evolution*. 2005;59:1900–1913.
130. Klopstein S, Currat M, Excoffier L. The fate of mutations surfing on the wave of a range expansion. *Molecular Biology Evolution*. 2006;23:482–490.
131. Kloss L, Fischer M, Durka W. Land-use effects on genetic structure of a common grassland herb: A matter of scale. *Basic and Applied Ecology*. 2011;12:440–448.
132. Kolar CS, Lodge DM. Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology and Evolution*. 2001;16:199–204.
133. Kölliker R, Stadelmann FJ, Reidy B, Nösberger J. Fertilization and defoliation frequency affect genetic variability of *Festuca pratensis* Huds. in permanent grasslands. *Molecular Ecology*. 1998;7:1757–1768.
134. Koppitz H, Kuhl H, Hesse K, Kohl JG. Some aspects of the importance of genetic diversity in *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex Steudel for the development of reed stands. *Botanica Acta*. 2000;110:217–223.
135. Kowarik I. Time lags in biological invasions with regard to the success and failure of alien species. In: Pyšek P, Prach K, Rejmanek M, Wade M, editors. *Plant invasions – general aspects and special problems*. Amsterdam: SPB Academic Publishing; 1995. p. 15–38.
136. Kühn I, Klotz S. The alien flora of Germany—basics from a new German database. In: Child LE, Brock JH, Brundu G, Prach K, Pyšek P, Wade PM, Williamson M, editors. *Plant Invasions: Ecological Threats and Management Solutions*. The Netherlands: Backhuys Publishers; 2003. p. 89–100.

137. Kupcinskiene E, Zybartaite L, Paulauskas A. Comparison of genetic diversity of three *Impatiens* species from Central Europe and Baltic region. *Žemdirbystė=Agriculture*. 2015;102(1):87–94.
138. Kupcinskiene E, Zybartaite L, Janulioniene R, Zukauskiene J, Paulauskas A. Molecular diversity of small balsam populations in relation to site characteristics. *Central European Journal of Biology*. 2013;8(10):1048–61.
139. Kuprevičius J. Medžiaga Kauno apylinkių florai tirti. *Kosmos*. 1931;1:236–295.
140. Lambdon PW, Lloret F, Hulme PE. How do introduction characteristics influence the invasion success of Mediterranean alien plants? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 2008;10:143–159.
141. Lambertini C, Gustafsson MHG, Frydenberg J, Speranza M, Brix H. Genetic diversity patterns in *Phragmites australis* at the population, regional and continental scales. *Aquatic Botany*. 2008;88:160–170.
142. Lambrinos JG. How interactions between ecology and evolution influence contemporary invasion Dynamics. *Ecology*. 2004;85:2061–2070.
143. Landolt, E. Flora der Stadt Zürich. Basel: Birkhäuser; 2001.
144. Lauber K, Wagner G. Flora helvetica. Bern: Haupt Verlag; 1998.
145. Lavergne S, Molofsky J. Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104:3883–3888.
146. Lazdauskaitė Ž. *Erigeron* L. In: Minkevičius, Jankevičius K, Brundza K, Dagys J, Jankevičienė R, Lekavičius A, Natkevičaitė-Ivanauskienė M, redaktoriai. Lietuvos TSR flora. Vilnius: 1980. p. 43–45.
147. Le Maitre DC, Richardson DM, Chapman RA. Alien plant invasions in South Africa: driving forces and the human dimension. *South African Journal of Science*. 2004;100:103–112.
148. Leberg PL, Smith MH, Brisbin IL. Influence of sex, habitat and genotype on the growth patterns of white-tailed deer. In: Brown RD, editor. The biology of deer. New York: Springer-Verlag; 1992. p. 343–350.
149. Lee CE. Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution*. 2002;17:386–391.
150. Leger EA, Rice KJ. Invasive California poppies (*Eschscholzia californica* Cham.) grow larger than native individuals under reduced competition. *Ecology Letters*. 2003;6:257–264.

151. Leiblein-Wild MC, Tackenberg O. Phenotypic variation of 38 European *Ambrosia artemisiifolia* populations measured in common garden experiment. *Biological Invasions*. 2014;16(9):2003–2015.
152. Lenzin H, Kohl J, Muehlethaler R, Odiet M, Baumann N, Nagel P. Verbreitung, Abundanz und Standorte ausgewählter Neophyten in der Stadt Basel (Schweiz). *Bauhinia*. 2001;15:39–56.
153. Levin DA. The role of chromosomal change in plant evolution. New York: Oxford University Press; 2002.
154. Levine JM. Species diversity and biological invasions: relating local process to community pattern. *Science*. 2000;288:852–854.
155. Li W, Wang B, Wang J. Lack of genetic variation of an invasive clonal plant *Eichhornia crassipes* in China revealed by RAPD and ISSR markers. *Aquatic botany*. 2006;84(2):176–180.
156. Lynch M, Milligan BG. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*. 1994;3:91–99.
157. Lockwood JL, Cassey P, Lackburn TB. The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology & Evolution*. 2005; 20: 223–228.
158. Lonsdale WM. Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology*. 1999;80:1522–1536.
159. Lorenzo P, Malvido EP, Reigosa MJ, González L. Differential responses to allelopathic compounds released by the invasive *Acacia dealbata* Link (*Mimosaceae*) indicate stimulation of its own seed. *Australian Journal of Botany*. 2010;58:546–555.
160. Lui K, Thompson FL, Eckert CG. Causes and consequences of extreme variation in reproductive strategy among invasive populations of a clonal aquatic plant, *Butomus umbellatus* (*Butomaceae*). *Biological Invasions*. 2005;7:427–444.
161. Luque GM, Bellard C, Bertelsmeier C, Bonnaud E, Genovesi P, Simberloff D, Courchamp F. The 100th of the world's worst invasive alien species. *Biological invasions*. 2014;16:981–985.
162. Macel M, Lawson CS, Mortimer SR, Šmilaurová M, Bischoff A, Cremieux L, Doležal J, Edwards AR, Lanta V, Bezemer TM, Van der Putten WH, Igual JM, Rodriguez-Barrueco C, Müller-Scharer H, Steinger T. Climate vs. soil factors in local adaptation of two common plant species. *Ecology*. 2007;88(2):424–433.
163. Mack RN, Lonsdale WM. Humans as global plant dispersers: Getting more than we bargained for. *BioScience*. 2001;51:95–102.

164. Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz FA. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences and control. *Ecological Applications*. 2000;10:689–710.
165. Maron JL, Vilà M. Do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos*. 2001;95:363–73.
166. Marshall DR, Jain SK. Phenotypic plasticity of *Avena fatua* and *A. barbata*. *The American Naturalist*. 1968;102:457–467.
167. Milne RI, Abbott RJ. Origin and evolution of invasive naturalized material of *Rhododendron ponticum* L. in the British Isles. *Molecular Ecology*. 2000;9:541–556.
168. Mitchell CE, Power AG. Release of invasive plants from fungal and viral pathogens. *Nature*. 2003; 421:625–627.
169. Montgomery FH, Yang SJ. Cytological studies in the genus *Erigeron*. *Canadian Journal of Botany*. 1960; 38:381–386.
170. Moravcová L, Pyšek P, Pergl J, Perglová I, Jarošík V. Seasonal pattern of germination and seed longevity in the invasive species *Heracleum mantegazzianum*. *Preslia*. 2006;78:287–301.
171. Motiekaitytė V. Plant associations of *Dauco-Melilotion* alliance in Lithuania. *Biologija*. 2001;2:91–95.
172. Motiekaitytė V. Urbofitocenozės, sintaksonomija, toksikotolerantiškumas, sukcesijos, funkcijos. Vilnius: Botanikos instituto leidykla; 2002.
173. Mowszowicz J. Flora and plant communities of hills of Paneriai and their surrounding area. Vilnius: 1938.
174. Natkevičaitė M. Lietuvos TSR adventyvinė flora. Vilnius: Lietuvos TSR mokslų akademija; 1951.
175. Nagy AM, Korpelainen H. Population genetics of Himalayan balsam (*Impatiens glandulifera*): comparison of native and introduced populations. *Plant Ecology & Diversity*. 2015;8(3):317–321.
176. Nazaruk J, Karna E, Wiczorek P, Sacha P, Trynieszewska E. In vitro antiproliferative and antifungal activity of essential oils from *Erigeron acris* L. and *Erigeron annuus* (L.). Pers., *Z. Naturforsch.* 2010;65:642–646.
177. Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*. 1975;29:1–10.
178. Nei M. Genetic distance between populations. *The American Naturalist*. 1972;106:283–292.

179. Nesom GL. Generic conspectus of the tribe *Astereae* (*Asteraceae*) in North America, Central America, the Antilles, and Hawaii. *Sida*. 2000; 220:93–114.
180. Nesom GL. Infrageneric taxonomy of New World *Erigeron* (*Compositae: Astereae*). *Phytologia*. 1989; 67:67–93.
181. Nesom GL. Subtribal classification of the *Astereae* (*Asteraceae*). *Phytologia*. 1994;76:193–274.
182. Neuffer B, Hurka H. Colonization history and introduction dynamics of *Capsella bursa-pastoris* (*Brassicaceae*) in North America: Isozymes and quantitative traits. *Molecular Ecology*. 1999;8:1667–681.
183. Nicotra AB, Atkin OK, Bonser SP, Davidson AM, Finnegan EJ, Mathesius U, Poot U, Purugganan MD, Richards CL, Valladares F, van Kleunen M. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science*. 2010;15:684–692.
184. nobanis.org [internetinè svetainè]. Denmark, Inc.; sukurta 2010-01 [atnaujinta 2015-05-01, cituota 2015-06-20]. Adresas: <https://www.nobanis.org/>.
185. Noyes RD, Rieseberg, LH. Two independent loci control agamospermy (Apomixis) in the triploid flowering plant *Erigeron annuus*. *Genetics*. 2000;155:379–390.
186. Noyes RD. Diplospory and parthenogenesis in sexual x agamospermous (apomictic) *Erigeron* (*Asteraceae*) hybrids. *International Journal of Plant Sciences*. 2000;161(1):1–12.
187. Novak SJ, Mack RN. Genetic bottlenecks in alien plant species: influence of mating systems and introduction dynamics. In: Sax DF, Gaines SD, Stachowicz JJ, editors. *Exotic Species - Bane to Conservation and Boon to Understanding: Ecology, Evolution and Biogeography*. USA: Sinauer; 2005. p. 95–122.
188. Oh H, Lee S, Lee HS, Lee DH, Lee SY, Chung HT, Kim TS, Kwon TO. Germination inhibitory constituents from *Erigeron annuus*. *Phytochemistry*. 2002;61:175–179.
189. Otto SP. The evolutionary consequences of polyploidy. *Cell*. 2007;131:452–462.
190. Otto, SP, Whitton J. Polyploid incidence and evolution. *Annual Review Genetics*. 2000;34:401–437.
191. Pahl AT, Kollmann J, Mayer A, Haider S. No evidence for local adaptation in an invasive alien plant: field and greenhouse experiments tracing a colonization sequence. *Annals of Botany*. 2013;112:1921–1930.
192. Pandit MK, Pockock MJO, Kunin WE. Ploidy influences rarity and invasiveness in plants. *Journal of Ecology*. 2011;99:1108–1115.
193. Pannell JR, Barrett SCH. „Baker’s law revisited: reproductive assurance in metapopulation. *Evolution*. 1998;52:657–668.

194. Park KA, Shim KC, Kil JH, Yeau SH. Allelopathic effects of aqueous extracts from *Eupatorium rugosum* Houtt. and *Erigeron annuus* L. on radicles growth of *Lactuca sativa* and *Raphanus raphanistroides*. *Allelopathy Journal*. 2011;27(1):65–74.
195. Parker IM, Rodriguez J, Loik ME. An evolutionary approach to understanding the biology of invasions: local adaptation and general-purpose genotypes in the weed *Verbascum thapsus*. *Conservation Biology*. 2003;17:59–72.
196. Patamsytė J, Čėsniėnė T, Naugžėmys D, Kleizaitė V, Vaitkūnienė V, Rańėelis V, Źvingila D. Genetic diversity of warty cabbage (*Bunias orientalis* L.) revealed by RAPD and ISSR markers. *Źemdirbyste=Agriculture*. 2011;98: 293–300.
197. Patamsytė J, Rańėelis V, Čėsniėnė T, Kleizaitė V, Tunaitienė V, Naugžėmys D, Vaitkūnienė V, Źvingila D. Clonal structure and reduced diversity of the invasive alien plant *Erigeron annuus* in Lithuania. *Central European Journal of Biology*. 2013;8(9):898–911.
198. Pattison RR, Goldstein AG, Ares, AA. Growth, biomass allocation and photosynthesis of invasive and native Hawaiian rainforest species. *Oecologia*. 1998;117:449–459.
199. Peakall R, Smouse PE. GenALEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. *Bioinformatics*. 2006;28:2537–2539.
200. Pedrol N, González L, Reigosa MJ. Allelopathy and abiotic stress. In: Reigosa MJ, Pedrol N, González L, editors. *Allelopathy: a physiological process with ecological implications*. Dordrech: Springer; 2006. p. 171–209.
201. Perglová I, Pergl J, Pyšek P. Flowering phenology and reproductive effort of the invasive alien plant *Heracleum mantegazzianum*. *Preslia*. 2006;78:265–285.
202. Petit RJ, Mousadik AE, Pons O. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology*. 1998;12:844–855.
203. Pigliucci M. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution*. 2005;20(9):481–486.
204. Pyšek P, Hulme PE. Spatio-temporal dynamics of plant invasions: Linking pattern to process. *Ecoscience*. 2005;12(3):302–315.
205. Pyšek P, Sádlo J, Mandák B. Catalogue of alien plants of the Czech Republic. *Preslia*. 2002;74:97–186.
206. Pyšek PK, Prach P, Smilauer. Relating invasion success to plant traits: an analysis of the Czech alien flora. In: Pysek P, Prach K, Rejmánek M, Wade M, editors. *Plant invasions. General aspects and special problems*. Netherlands: Backhuys; 1999. p. 39–60.

207. Poorter H, Bergkotte M. Chemical composition of 24 wild species differing in relative growth rate. *Plant, Cell and Environment*. 1992;15:221–229.
208. Porebski S, Bailey LG, Baum BR. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenols components. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1997;15(1):8–15.
209. Prentis PJ, Wilson JR, Dormontt EE, Richardson DM, Lowe AJ. Adaptive evolution in invasive species. *Trends in Plant Science*. 2008;13(6):288–294.
210. Pritchard JK, Stephens M, Peter D. Inference of population structure using multi-locus genotype data. *Genetics*. 2000;155:945–959.
211. Qian W, Ge S, Hong DY. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected RAPD and ISSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;102:440–449.
212. Rančelis V. Augalų genetika. Kaunas: Technologija; 2008.
213. Reynolds SCP. A catalogue of alien plants in Ireland. Ireland: National Botanic Gardens; 2002.
214. Reisch C, Poschlod P. Land use affects flowering time: seasonal and genetic differentiation in the grassland plant *Scabiosa columbaria*. *Evolutionary Ecology*. 2009;23:753–764.
215. Rejmanek M. Invasibility in plant communities. In: Drake JA, Mooney HA, diCastrì F, Groves RH, Kruger FJ, Rejmanek M, Williamson M, editors. Biological invasions: a Global Perspective. New York: John Wileys and Sons; 1989. p. 369–388.
216. Rejmánek M. Invasive plants: approaches and predictions. *Australian Ecology*. 2000;25:497–506.
217. Rejmánek M, Richardson DM, Pyšek P. Plant invasions and invasibility of plant communities. In: Van der Maarel E, editor. Vegetation ecology. Massachusetts, USA: Blackwell; 2005. p. 332–355.
218. Rejmánek M. Species richness and resistance to invasions. In: Orians GH, Dirzo R, Cusman JH, editors. Diversity and Processes in Tropical Forest Ecosystems. Berlin: Springer-Verlag; 1996. p. 153–72.
219. Ren MX, Zhang QG. Clonal diversity and structure of the invasive aquatic plant *Eichhornia crassipes* in China. *Aquatic Botany*. 2007;87:242–246.
220. Richards CL, Bossdorf O, Muth NZ, Gurevitch J, Pigliucci M. Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecology Letters*. 2006;9:981–993.

221. Richardson DM, Pyšek P, Rejmánek M, Barbour MG, Panetta DF, West CJ. Naturalization and invasion of alien plants-concepts and definitions. *Diversity and Distributions*. 2000;6:93–107.
222. Richardson DM, Pyšek P. Plant invasions: Merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Progress in Physical Geography*. 2006;30(3):409–431.
223. Richardson DM. 1999. Commercial forestry and agroforestry as sources of invasive alien trees and shrubs. In: Sandlund OT, Schei PJ, Viken Å, editors. *Invasive species and biodiversity management*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 1999. p. 237- 357.
224. Rieseberg LH, Rosenthal DM, Lai Z, Livingstone K, Nakazato T, Durphy JL, Swartzbach AE, Danovan LA, Lexer C. Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization. *Science*. 2003;301:1211–1216.
225. Rius M, Darling JA. How important is intraspecific genetic admixture to the success of colonising populations? *Trends in Ecology & Evolution*. 2014;29:233–242.
226. Rosenberg NA. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*. 2004;4:137–138.
227. Rothmaler W, Schuber R, Vent W. Rothmaler Exkursionsflora von Deutschland. Fischer G, editor. *Gefäßpflanzen: Kritischer Band*: spectrum Akademischer Verlag; 1994.
228. Sakai A, Allendorf FW, Holt JS, Lodge DM, Molofsky J, With KA, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC, McCauley DE, O’Neil P, Parker IM, Thompson JN, Weller SG. The population biology of invasive species. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*. 2001;32:305–332.
229. Santamaría L, Figuerola J, Pilon JJ, Mjelde M, Green AJ, De Boer T, King RA, Gornall R. Plant performance across latitude: the role of plasticity and local adaptation in an aquatic plant. *Ecology*. 2003;84:1454–1461.
230. Scharfy D, Funk A, Venterink HO, Güsewell S. Invasive forbs differ functionally from native graminoids, but are similar to native forbs. *New Phytologist*. 2011;189:818–828.
231. Schierenbeck KA, Ellstrand NC. Hybridization and the evolution of invasiveness in plants and other organisms. *Biological Invasions*. 2009;11:1093–1105.
232. Schlichting CD. The role of phenotypic plasticity in diversification. In: DeWitt TJ, Scheiner SM, editors. *Phenotypic Plasticity: Functional and Conceptual Approaches*. Oxford: Oxford University Press; 2004. p. 191–200.
233. Shea K, Chesson P. Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends Ecology Evolution*. 2002;17:170–176.

234. Shirk RY, Hamrick JL, Zhang C, Qiang S. Patterns of genetic diversity reveal multiple introductions and recurrent founder effects during range expansion in invasive populations of *Geranium carolinianum* (Geraniaceae). *Heredity*. 2014;112:497–507.
235. Siemann E, Rogers WE. Herbivory, disease, recruitment limitation, and success of alien and native tree species. *Ecology*. 2003;84:1489–1505.
236. Simberloff, D. The role of propagule pressure in biological invasions. Annual Review of *Ecology, Evolution and Systematics*. 2009;40:81–102.
237. Solé M, Durka W, Eber S, Brandl R. Genotypic and genetic diversity of the common weed *Cirsium arvense* (Asteraceae). *International Journal of Plant Science*. 2004;165:437–444.
238. Specht RL, Specht A. 1999. Australian plant communities. Oxford: Oxford university Press; 1999.
239. Stebbins GL. Flowering plants: evolution above the species level. Cambridge Mass: The Belknap Press of Harvard Univ; 1974.
240. Stebbins GL. The significance of hybridization for plant taxonomy and evolution. *Taxon*. 1969;18:26–35.
241. Stratton DA Life-cycle components of selection in *Erigeron annuus*. II. Genetic variation. *Evolution*. 1992;46:107–120.
242. Stratton DA. Life history variation within populations of an asexual plant, *Erigeron annuus* (Asteraceae). *American Journal of Botany*. 1991;78:723–728.
243. Stratton DA. Life cycle components of selection in *Erigeron annuus*. [dissertation]. USA: State University of New York; 1988.
244. Sultan SE. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*. 2000;5:537–542.
245. Szabó L. Gy. Allelopathy-Phytochemical potential-Life strategy. Pécs: Janus Pannoniensis Tudományegyetem; 1997.
246. Szabó LGy. Juglone index-a possibility for expressing allelopathic potential of plant taxa with various life strategies. *Acta Botanica Hungarica*. 2000;42:304–313.
247. Tahara M. Cytologische Studien an einigen Kompositen. Journal of the College of Science, Imperial University of Tokyo. 1921;43(7):1–53.
248. Torchin ME, Lafferty KD, Kuris AM. Release from parasites as natural enemies: increased performance of a globally introduced marine crab. *Biological Invasions*. 2001;3:333–345.
249. Treier UA, Broennimann O, Normand S, Guisan A, Schaffner U, Steinger T, Müller-Schärer H. Shift in cytotype frequency and niche space in the invasive plant *Centaurea maculosa*. *Ecology*. 2009;90:1366–1377.

250. Trtikova M, Edwards PJ, Güsewell S. No adaptation to altitude in the invasive plant *Erigeron annuus* in the Swiss Alps. *Ecography*. 2010;33(3):556–564.
251. Trtikova M, Güsewell S, Baltisberger M, Edwards PJ. Distribution, growth performance and genetic variation of *Erigeron annuus* in the Swiss Alps. *Biological Invasions*. 2011;13:413–422.
252. Trtikova M. Altitudinal limit of *Erigeron annuus* in the Swiss Alps. [dissertation]. Zurich. Mendel University of Agriculture and forestry; 2008.
253. Trtikova M. Effects of competition and mowing on growth and reproduction of the invasive plant *Erigeron annuus* at two contrasting altitudes. *Botanica Helvetica*. 2009;119:1–6.
254. Van der Toorn J, Pons TL. Establishment of *Plantago lanceolata* L. and *Plantago major* L. among grass. II. Shade tolerance of seedlings and selection on time of germination. *Oecologia*. 1988;76:341–347.
255. Van Kleunen M, Dawson W, Essl F, Pergl J, Winter M, Weber E, Kreft H, Weigelt P, Kartesz J, Nishino M, Antonova LA, Barcelona JF, Cabezas FJ, Cárdenas D, Cárdenas-Toro J, Castaño N, Chacón E, Chatelain C, Ebel AL, Figueiredo E, Fuentes N, Groom QJ, Henderson L, Inderjit, Kupriyanov A, Masciadri S, Meerman J, Morozova O, Moser D, Nickrent DL, Patzelt A, Pelsler PB, Baptiste MP, Poopath M, Schulze M, Seebens H, Shu WS, Thomas J, Velayos M, Wieringa JJ, Pyšek P. Global exchange and accumulation of non-native plants. *Nature*. 2015;525:100–103.
256. Vekemans X, Beauwens T, Lemaire M, Roldán-Ruiz I. Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size. *Molecular Ecology*. 2002;11:139–151.
257. Viard F, Comtet T. Long-Term Establishment and Consequences on the Ecosystems. In: Canning-Clode J, editor. *Biological Invasions in Changing Ecosystems-Vectors, Ecological Impacts, Management and Predictions*. Berlin: De Gruyter. 2015. p. 423–427.
258. Vila M, Weber E, D'Antonio CM. Conservation implications of invasion by plant hybridization. *Biological Invasions*. 2000;2:207–17.
259. Vyšniauskienė R, Rančelienė V, Žvingila D, Patamsytė J. Genetic diversity of invasive alien species *Lupinus polyphyllus* populations in Lithuania. *Žemdirbystė=Agriculture*. 2011;98:383–390.
260. Vyšniauskienė R, Rančelienė V, Patamsytė J, Žvingila D. High genetic differentiation among wild populations of alien *Medicago sativa* species in Lithuania. *Central European Journal of Biology*. 2013;8(5):480–91.

261. Wagenitz G. Compositen (Korbblütler). In: Wagenitz G, (editor). Hegi Illustrierte Flora von Mitteleuropa. München: Carl Hanser Verlag; 1965. p. 81–160.
262. Wang T, Su Y, Chen G. Population genetic variation and structure of the invasive weed *Mikania micrantha* in Southern China: consequences of rapid range expansion, *J. Heredity*. 2008;99:22–23.
263. Wang ZS, An SQ, Liu H, Leng X, Zheng JW, Liu YH. Genetic structure of the endangered plant *Neolitsea sericea* (*Lauraceae*) from the Zhoushan archipelago using RAPD markers. *Annals of Botany*. 2005;95:305–313.
264. Whitney KD, Gabler CA. Rapid evolution in introduced species, 'invasive traits' and recipient communities: challenges for predicting invasive potential. *Diversity and Distributions*. 2008;14:569–580.
265. Williams CB. Patterns in the balance of nature. London: Academic Press; 1964.
266. Williams DG, Mack RN, Black RA. Ecophysiology of introduced *Pennisetum setaceum* on Hawaii – the role of phenotypic plasticity. *Ecology*. 1995;76:1569–80.
267. Williams PH, Margules CR, Hilbert DW. Data requirements and data sources for biodiversity priority area selection. *Journal of biosciences*. 2002;27:327–338.
268. Williamson M. Invasions. *Ecography*. 1999;22:5–12.
269. Williamson MH, Brown KC. The analysis and modelling of British invasions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 1986;314:505–22.
270. Willis AJ, Blossey B. Benign environments do not explain the increased vigour of non-indigenous plants: a cross-continental transplant experiment. *Biocontrol Science and Technology*. 1999;9:567–577.
271. Wolfe B, Klironomos JN. Breaking new ground: soil communities and exotic plant invasion. *BioScience*. 2005;55:477–487.
272. Wolkovich EM, Cleland EE. The phenology of plant invasions: a community ecology perspective. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2011;9:287–294.
273. Wood T, Takebayashi N, Barker M, Mayrose I, Greenspoon P, Rieseberg L. The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106:13875–13879.
274. Wu W, Zheng YL, Chen L, Wei YM, Yang RW, Yan ZH. Evaluation of genetic relationships in the genus *Houttuynia* Thunb. in China based on RAPD and ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2004;33:1141–1157.
275. Xiao-yong L, Qitao X, Shijun. Study on Allelopathic Activities of Different Organs of 20 Species of Compositae Plants. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*. 2009;30.

276. Xie Z, Lu Y, Ge S, Hong D, Li F. Clonality in wild rice (*Oryza rufipogon*, Poaceae) and its implications for conservation management. *American Journal of Botany*. 2001;88:1058–1064.
277. Zhu B, Georgian SE. Interactions between invasive Eurasian watermilfoil and native water stargrass in Cayuga Lake, NY, USA. *Journal of Plant Ecology*. 2014;7(6):1–10.
278. Zybartaite L, Žukauskienė J, Jodinskienė M, Janssens SB, Paulauskas A, Kupčinskienė E. RAPD analysis of genetic diversity among Lithuanian populations of *Impatiens glandulifera*, *Žemdirbystė=Agriculture*. 2011;98:391–398.
279. Zobel AM, Clarke PA. Production of phenolic compounds in seedlings of *Acer saccharum* and *Acer platanoides* in response to UV-A radiation and heavy metals. *Allelopathy*. 1999;6:21–34.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju savo vadovui prof. Donatui Žvingilai ir moksliniam konsultantui prof. Jonui Remigijui Naujaliui už pasiūlytą galimybę atlikti doktorantūros tyrimus, už jų neblėstantį entuziazmą, idėjas bei pasidalintą patirtį.

Esu labai dėkinga visam Augalų genetikos laboratorijos kolektyvui už pagalbą atliekant doktorantūros tyrimus bei ruošiant disertaciją, už draugišką atmosferą bei vertingus patarimus.

Dėkoju dr. Reginai Juodkaitei už suteiktą gaimybę atlikti bendro sklypo eksperimentą bei draugišką atmosferą.

Taip pat dėkoju šeimai už visokeriopą palaikymą ir paramą.

Tyrimai finansuoti Lietuvos mokslo tarybos (LEK 04/2010 ir LEK-07/2012).

