

Tartu Ülikooli
Loodus- ja tehnoloogiateaduskond
Ökoloogia ja Maateaduste instituut
Botaanika osakond

Robin Gielen

Liblikatel parasitäärite seente liigirikkus ja ökoloogia

Magistritöö

Juhendajad: vanemteadur Kadri Põldmaa
professor Toomas Tammaru

Tartu 2018

Liblikatel parasiteerivate seente liigirikkus ja ökoloogia

Lühikokkuvõte: Käesoleva magistritöö üheks eesmärgiks oli uurida liblikatel olevat seenentomopatogeenide liigirikkust. Selleks määrati morfoloogiliste ja molekulaarsete tunnuste abil seened viie eri liblikaliigi (harilik valgevaksik (*Cabera pusaria* L.), võrkvaksik (*Chiasmia clathrata* L.), võsavaksik (*Ematurga atomaria* L.), salu-samblikuvaksik (*Hypomecis punctinalis* Scopoli) ja kirj-kevadöölane (*Orthosia gothica* L.)) surnud nukkudel. Kokku tuvastati 17 erinevat seeneliiki 11-st sugukonnast, seitsmest seltsist ja viiest klassist. Entomofaagseid liike, mida kirjanduse põhjal pole liblikalistelt leitud, oli kaks – *Metapochonia bulbillosa* (W. Gams & Malla) Kepler, S. A. Rehner & Humber ja *Tilachlidium brachiatum* (Batsch) Petch. Eestile uusi seeneliike määrati viis: *Isaria* cf. *cicadae* Miq., *Simplicillum* cf. *lanosoniveum* (J.F.H. Beyma) Zare & W. Gams, *Metapochonia bulbillosa* (W. Gams & Malla) Kepler, S.A.Rehner & Humber, *Mortierella verticillata* Linnem. ja *Umbelopsis ramanniana* (Möller) W. Gams. Töö teiseks eesmärgiks oli uurida, mil määral mõjutab seenega nakatumise tõenäosust putuka enda füüsiline konditsioon ja geneetiline taust või on seenhaigusesse nakatumisel määravaks hoopis keskkonnategurid nagu fenoloogiline faas, mikroelupaiga omadused või toidutaim. Selleks kasvatati hariliku valgevaksiku röövikuid looduslähedastes tingimustes ning fikseeriti nende seenetamine. Katse tulemusena näidati ära, et entomopatogeensed seened ei põhjusta harilikul valgevaksikul valikusurvet elupaiga kasutusele, putuka fenoloogiale või toidutaime valikule.

Märksõnad: Entomopatogeensed seened, endofüüdid, elukäiguteooria, harilik valgevaksik (*Cabera pusaria* L.)

CERCS: 250 Entomoloogia, taimede parasitoloogia

Species richness and ecology of entomopathogenic fungi on Lepidoptera

Abstract: The first aim of current master's thesis was to document the community of entomopathogenic fungi in lepidoptera. Dead pupae of five lepidopteran species (*Cabera pusaria* L., *Chiasmia clathrata* L., *Ematurga atomaria* L., *Hypomecis punctinalis* Scopoli and *Orthosia gothica* L.) were examined and existing fungi were identified using morphological and molecular characteristics. All together 17 different fungal species of 11 genera, seven orders and five classes were isolated. Two entomopathogenic fungi – *Metapochonia bulbilosa* (W. Gams & Malla) Kepler, S. A. Rehner & Humber and *Tilachlidium brachiatum* (Batsch) Petch – were found on lepidoptera for the first time. Five fungal species new to Estonia were isolated: *Isaria* cf. *cicadae* Miq., *Simplicillum* cf. *lanosoniveum* (J.F.H. Beyma) Zare & W. Gams, *Metapochonia bulbilosa* (W.Gams & Malla) Kepler, S.A.Rehner & Humber, *Mortierella verticillata* Linnem. and *Umbelopsis ramanniana* (Möller) W. Gams. The second aim of current master's thesis was to determine in which way does an insect's physiological condition, genetical background, phenology, microenvironment or food plant influence its susceptibility to entomopathogenic fungi. Caterpillars of *Cabera pusaria* were grown in almost natural conditions and their fungal infections were documented. Experimental results suggest that entomopathogenic fungi do not impose strong selection on insect life history traits such as habitat selection, phenology or host use in the geometrid *Cabera pusaria* L.

Keywords: Entomopathogenic fungi, endophytes, life history theory, common white wave (*Cabera pusaria* L.)

CERCS: Entomology, plant parasitology

Sisukord

1	Sissejuhatus	5
2	Materjal ja metoodika.....	8
2.1	Seente elurikkuse laboratoorne uurimus.....	8
2.1.1	Materjali kogumine ja määramine.....	8
2.1.2	DNA eraldamine, PCR ja DNA järjestuste analüüs	8
2.2	Seenega nakatumise tõenäosus looduses	9
2.2.1	Katse ülesehitus	9
2.2.2	Katsealade valik	10
2.2.3	Laboratoorsed tööd.....	11
2.3	Andmeanalüüs	12
3	Tulemused	13
3.1	Liblikanukkudel tuvastatud seened	13
3.1.1	Määratud entomofaagid.....	13
3.1.2	Saprotroofid – fakultatiivsed entomopatogeenid	16
3.2	Välikatse tulemused.....	19
4	Arutelu.....	22
5	Kokkuvõte	25
	Tänuavaldused.....	26
	Kasutatud kirjandus.....	27
	Lisad	31

1 Sissejuhatus

Entomopatogeensed seened on putukatele spetsialiseerunud parasiidid (Kobmoo jt., 2012). Selline strateegia on tekkinud seente evolutsiooni käigus mitu korda sõltumatult ning esineb enamikes tänapäevastes seente hõimkondades (Boomsma jt., 2014; Humber, 2008). Esimesed fossiilsed andmed putukaid kasvusubstraadina kasutavatest seentest pärinevad Kriidi ajastust (Blackwell, 2000). Tänapäeval on entomopatogeenseid seeni kirjeldatud üle 700 liigi (Barelli jt., 2016).

Seenparasiitide edu aluseks on vähemalt osaliselt nende nakatamisstrateegia: erinevalt teistest patogeenidest suudavad nad nakatada putukat läbi tema väliskesta (Cory ja Ericsson, 2009). Entomopatogeenidel on kujunenud mitmeid erinevaid strateegiaid, mis võimaldavad toime tulla peremeesorganismide ebahüütlase paigutusega ruumis ning ressursi hooajalisusega (Boomsma jt., 2014). Tagamaks, et osagi järglastest kohtuks sobiva peremehega tuleb toota rohkelt eoseid (Cole ja Hoch, 1991). Putuka nakatumiseks on vajalik minimaalne eoste kontsentratsioon (Inglis jt., 2012). Kokkupuutel sobiva peremehega on idanevale seenele oluline kiire ohvrise tungimine, et välistada maha raputamise või kukkumise võimalust (Cole ja Hoch, 1991). Peremehe sees areneb seen hüüfidena, koloniseerides uusi kudesid. Peremees sureb toksiinide kuhjumise, kudede invasiooni ja toitainete puuduse koosmõjul (Inglis jt., 2012). Putuka surm ei tohi saabuda liiga kiiresti, kuna seen vajab sporulatsiooniks kriitilist massi (Boomsma jt., 2014). Pärast ohvri surmamist jääb seen ootama sporulatsiooniks sobivaid tingimusi: niiskust ja sooja (Inglis jt., 2012). Laborikatsed on näidanud, et sporulatsiooniks on vajalik kohati kuni 95% õhuniiskus (Boomsma jt., 2014). Eoste levik toimub tuule ja vee abil (Inglis jt., 2012). Keskkonnas leidubki seenentomopatogeene ennekõike eostena (Cory ja Ericsson, 2009).

Entomofaagsetel seentel on teada kaks erinevat toitumisstrateegiat: biotroofne ja saprotroofne. Biotroofseid iseloomustab toitumine putuka toitainetest ja elusatest kudedest, saprotroofseid aga surnud putukast (Roy jt., 2006). Kõige tuntumate entomopatogeenide seltsis helekottseenelaadsed (*Hypocreales*) (Vega jt., 2009) esineb mõlema strateegiaga entomofaage, võimalik on ka kahest strateegiast kombineeritud toitumistüüp. Infektsiooni algstaadiumis toitutakse putuka hemotsöölis biotroofselt kuni putuka surmani toitainete puuduse või ladestunud toksiinide mõjul. Pärast surma jätkub toitumine saprotroofselt ning seen kasvab putukast väljapoole (Roy jt., 2006). Putuka surma järgselt algab konkurents surnud kudede üle teiste saprotroofidega.

Kuna entomopatogeeni suurimaks takistuseks on putuka kitiinkest (Samson jt., 1988), siis üks omadus, mis eristab obligatoorseid entomopatogeene fakultatiivsetest on kitiinkesta läbistamise võime (Ignoffo jt., 1982). Obligatoorsed entomopatogeened ehk entomofaagid on sellised, kes suudavad iseseisvalt läbistada putuka kitiinkesta. Näiteks perekonna *Lecanicillium* liikide suur virulentsus on otseselt seotud nende väga aktiivse ekstratsellulaarse kitinaasi tootmisega (Jackson jt., 1985). Fakultatiivsed entomopatogeened suudavad parasiteerida vaid haigel või nõrgestatud putukal, saprotroofidest eristab neid võime putuka immuunvastust ignoreerida, kas suure virulentsuse või kiire kasvu tõttu. Sellised on näiteks perekondade *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Fusarium* Link ja *Mucor* Fresen. liigid, kes putukasse süstituna on fakultatiivsed patogeensed (Ignoffo jt., 1982), samas kui mitmed teised saprotroofid sel moel infektsiooni ei põhjusta (Vey, 1971).

Putuka vastuvõtlikkust seeninfektsioonile mõjutavad sellised tingimused nagu seene geneetika, peremehe füsioloogia, toitumine ja immuunsüsteem, teiste mikroorganismide olemasolu ning väliskeskkond. Seepärast ei saa laboratoorsetes tingimustes adekvaatselt hinnata entomopatogeense seene ökoloogilist amplituudi, kuna tihti on laborikatsetes peremehed infektsioonile vastuvõtlikumad (Inglis jt., 2012). Tähtsaimad seen-entomopatogeene mõjutavad keskkonnatingimused on päikesevalgus, temperatuur ja õhuniiskus. Päikesevalgus omab seenele kahjulikku mõju UV-B kiirguse näol (Inglis jt., 2012). Temperatuur omab tähtsat rolli seene infektsioonikiiruse, putuka surmamise ja sporulatsiooni aja mõjutajana (Inglis jt., 2012). Nii on täheldatud, et kindlad sihktiivaliste (*Orthoptera*) liigid entomopatogeenidega nakatumise korral tõstavad oma kehatemperatuuri ning vedavad palju aega päikese käes seeneosid kiiritades (Roy jt., 2006). Samamoodi otsib nakatunud harilik toakärbes (*Musca domestica* L.) soojemaid kohti (Roy jt., 2006).

Ebasoodsate aegade (talv, põuaperioodid) üleelamiseks on entomopatogeenidel kujunenud keerulised seen-putukas-taim suhted (Boomsma jt., 2014). Nii on täheldatud helekottseenelaadsete (*Hypocreales*) entomopatogeenide esinemist endofüütidena (Gurulingappa jt., 2010; Inglis jt., 2012; Vidal ja Jaber, 2015). Endofüütideks nimetatakse seeni, kes elavad vähemalt mingi osa oma elutsüklist taimekudedes põhjustamata taimele haigust (Wilson, 1995). On näidatud, et endofüüdid tõstavad taimede abiootilise stressi taluvust (Bacon, 1993) ja biomassi toodangut, mis läbi suureneb taime konkurentsivõime (Barelli jt., 2016; Jaber ja Enkerli, 2017). Entomopatogeeni *B. bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. olemasolu taimes vähendab herbivoorsete putukate sigimist, toitumist ning eluiga (McKinnon jt. 2017). Entomopatogeenidega nakatunud putukad mitte ainult ei söö vähem, võrreldes tervete

liigikaaslastega, vaid ka nende seedimine on aeglustunud ning seeläbi on raskendatud toitainete omastamine (Roy jt. 2006).

Siiski leidub üllatavalt vähe töid, mis käsitlevad seenpatogeene herbivoorsete putukate ökoloogia seisukohast. Erinevalt mitmetest muudest patogeenidest (nt viirused), ei pöörata näiteks putukate populatsioonidünaamika uurimisel seenpatogeenidele suuremat tähelepanu (Price jt., 2011). Praktiliselt puuduvad uurimused, mis hindaksid seennakkuste osa valikusurve tekitajana putukate elukäiguomadustele.

Käesoleva töö eesmärgiks on uurida, mil määral mõjutab seenega nakatumise tõenäosust putuka enda füüsiline konditsioon ja geneetiline taust või on seenhaigusesse nakatumisel määravaks hoopis keskkonnategurid nagu fenoloogiline faas, mikroelupaiga omadused või toidutaim. Kuna laborikatsed ei pruugi anda adekvaatseid hinnanguid entomopatogeen-putuka ökoloogiast (Inglis jt., 2012), viidi läbi paralleelselt kaks katset: laboris ja looduses. Esimese käigus määrati laboris kasvatatavate erinevate liblikaliikide nukkudel kasvavaid seeni, eesmärgiga teha kindlaks nende liigiline mitmekesisus ja peremeesspetsiifilisus. Paralleelselt viidi looduses läbi välikatse - hariliku valgevaksiku (*Cabera pusaria* L.) röövikuid kasvatati looduses puuokstele paigutatud kottides. Katse käigus fikseeriti erinevad putuka vastuvõtlikust seentele mõjutavad tegurid. Lisaväljundina on tööl ka kirjeldav väärtus leidmaks Eestile uusi entomopatogeenseid liike.

2 Materjal ja metoodika

2.1 Seente elurikkuse laboratoorne uurimus

2.1.1 Materjali kogumine ja määramine

Uurimaks seenpatogeenide mitmekesisust liblikalistel, määrati seeni Tartu Ülikooli entomoloogia õppetooli laboris aastatel 2014-2016 läbi viidud uurimustööde (Meister jt., 2018; Meister jt., 2017) käigus surnud nukkudel. Mainitud uurimustes kasvatati laboris sadu liblikaröövikuid purkides ühekaupa munast valmikuni, röövikuid toideti Tartu ümbrusest korjatud taimelehtedega. Talvituvate nukkude suremus oli mõõdukas, kuid kevadeks surnud nukkudel võis sageli täheldada seenhaiguste silmaga nähtavaid tunnuseid.

Kokku sai autor enda käsutusse viie erineva liblikaliigi isendeid: hariliku valgevaksiku (*Cabera pusaria* L.), võrkvaksiku (*Chiasmia clathrata* L.) võsavaksiku (*Ematurga atomaria* L.), salu-samblikuvaksiku (*Hypomecis punctinalis* Scopoli) ja kirju-kevadöölase (*Orthosia gothica* L.) surnud nukud. Tuvastatava mütseeliga nukkudel isoleeriti steriilse skalpelli või nõela abil seen määramiseks 2% MEA (malt extract agar) söötmega Petri tassidele. MEA söötme koostis: 3 g linnasejahu pulbrit (Oxoid LP0039 Malt extract), 4 g agarit (Biolife; agar bois special LL) ja 200 ml Milli-Q destilleeritud vett, millele lisati antibiootikume - 2 ml streptomüsiini ja 2 ml tetratsükliini. Agar kaeti tsellofaaniga, et hõlbustada hilisemat mütseeli eemaldamist. Paari nädala möödudes määrati seene liik või perekond morfoloogiliste tunnuste alusel, kasutades Domsch jt. (1980), Samson jt. (1988) ja Seifert jt. (2011) määramistabeleid. Seejärel valiti igale morfotüübile iseloomulikud esindajad DNA sekveneerimiseks, et määrangut kontrollida või täpsustada.

2.1.2 DNA eraldamine, PCR ja DNA järjestuste analüüs

MEA söötmega Petri tassidelt eemaldati nädala möödudes tsellofaani pinnalt seene mütseel. Peale hoiustamist -2°C juures leotati seenmaterjali $0.015\text{ U}/\mu\text{l}$ proteinaas K (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 0.8 M Tris-HCl, 0.2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ja 0.2% w/v Tween-20 (Solis BioDyne, Tartu, Eesti) puhvrisk juures 56°C juures 15 tundi. Järgnevalt proteinaas K inaktiveeriti 15 minuti jooksul 98°C juures. Ebavajalik lüüsitud orgaanika sadestati tsentrifuugi abil 3 min

jooksul, 10 000 pööret minutis. Supernantandist tehti 10-kordne lahjendus, mida kasutati polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR, polymerase chain reaction) segus. Ribosomaalse DNA ITS (internal transcribed spacer) piirkonna amplifitseerimiseks kasutati segus ITSOF ja ITS4 praimereid. PCR segu tehti 25 µl mahus: kaks mikrolitrit 10X lahjendatud supernantanti, 0,5µl mõlemat praimerit, viis mikrolitrit 5×HOT FIREPol® Blend Master Mix (10mMol MgCl₂) ja 17 µl Milli-Q destilleeritud vett. Amplifitseeritud DNA fragmendid puhastati Exo-FastAP ensüümidega (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Fragmendid sekveneeriti Macrogen Inc. (Amsterdam, The Netherlands) poolt. Saadud sekvensid töödeldi programmiga Sequencher 5.4.6 (Gene Codes, Ann Arbor, MI, USA). Igale seenele, millest saadi piisava kvaliteediga ITS järjestus, leiti sellele kõige sarnasem(ad) ITS järjestused NCBI andmebaasi BLAST otsingu abil ja tuvastati seeläbi taksonoomiline kuuluvus. ITS järjestuste kuuluvus liigihüpoteesidesse leiti PlutoF andmebaasi kasutades (plutof.ut.ee). Kõik määratud seenesendid talletatakse TU LM seenekogus (TU), nende sekvensid ja nende isendite kohane andmestik talletatakse UNITE andmebaasis ja igast seeneliigist vähemalt üks puhaskultuur TÜ loodusmuuseumi seente puhaskultuuride kogus (TFC).

2.2 Seenega nakatumise tõenäosus looduses

2.2.1 Katse ülesehitus

Uurimaks seenega nakatumise sõltuvust putukaisendi parameetritest ja keskkonnatingimustest, viidi läbi välikatse, kus hariliku valgevaksiku röövikuid kasvatati looduslähedastes tingimustes ning fikseeriti nende seenetamine. Hariliku valgevaksiku viljastatud emased isendid püüti liblikavõrguga lennust või kase lehtedelt varasuvisel perioodil (juuni 2017) töö kaasjuhendaja, professor Toomas Tammaru, poolt. Isendeid peeti Empera 124N polüstüreenist purkides kuni munemiseni, munemise initsieerimiseks lisati purkidesse toidutaine (arukase, *Betula pendula* Roth) lehti. Peale munemist liblikas ja leht eemaldati purgist, purgid nummerdati ja jäeti toatemperatuurile (24°C) seisma kuni röövikute koorumiseni.

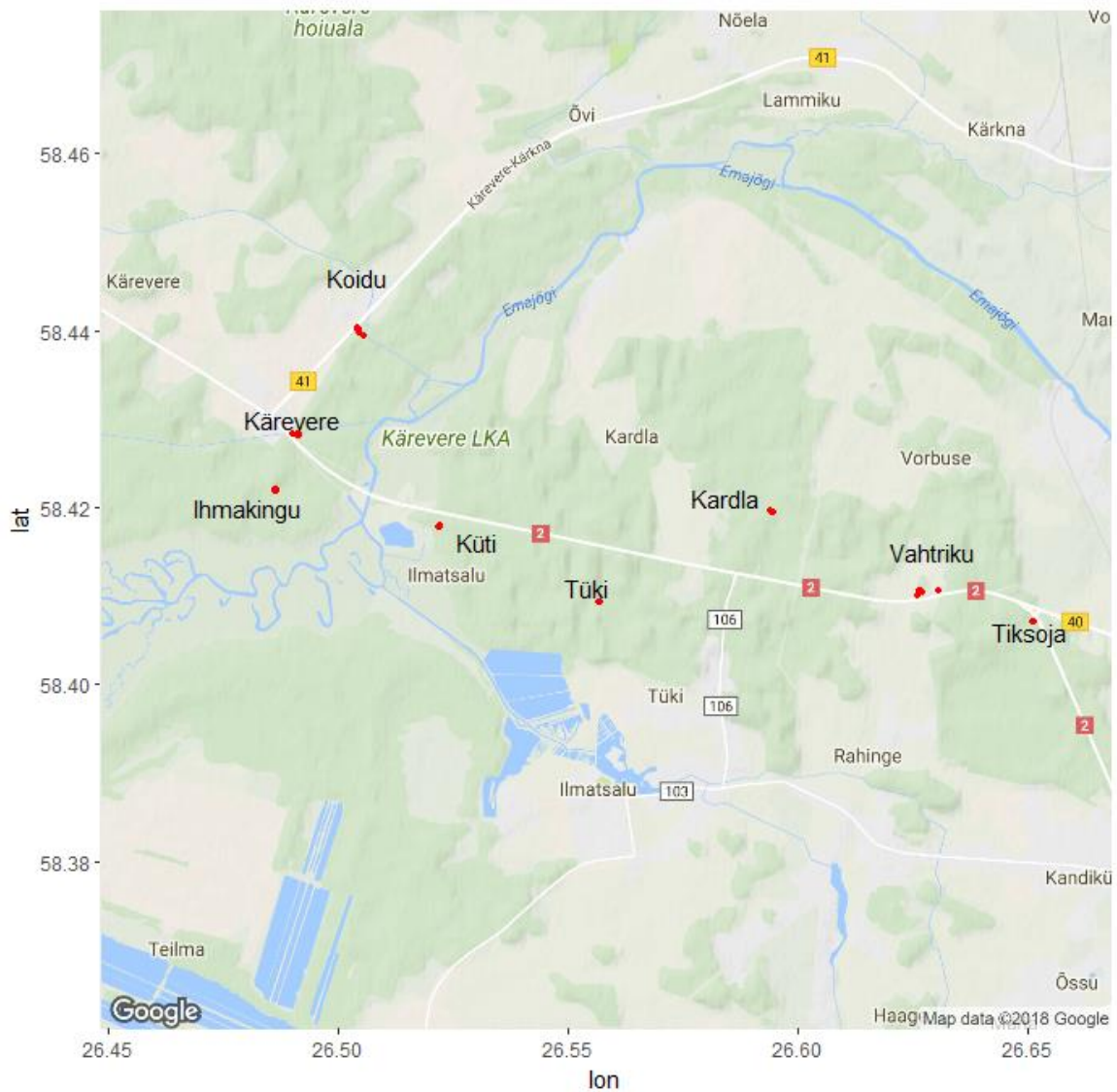
Uurimaks liblikate nakatumise tõenäosust võimalikult looduslähedastes tingimustes, viidi röövikud paari päeva jooksul peale koorumist liigi looduslikku biotoopi, kus nad pandi kasvama 50x30 cm 100 % polüestrist kottidesse. Varasemalt katsetes kasutatud kotid steriliseeriti hoides neid laminaarkapis UV kiirguse all viis minutit mõlemalt poolt. Kott asetati ühe kuni kahe meetri kõrgusele halli lepa (*Alnus incana* L.), sookase (*Betula pubescens* Erhr.)

või arukase lehistunud okste ümber nii, et kotti sisse jäi röövikutele elutsükli läbimiseks piisavat toitu. Kottid suleti nii, et liblikaröövikud ei pääsenud sealt välja ning röövputukad ja parasitoidid ei pääsenud sisse. Okstelt eemaldati seal eelnevalt paiknenud muud lüljalgsed raputamise teel. Kottid paigutati võimalusel poolvarju või varju, et vähendada kottis tekkivat kasvuhooneefekti. Igasse kotti asustati pintsi abil samalt vanemalt pärit röövikuid otse taimelehele. Ühe vanema järglased paigutati ühel alal nii kase kui ka lepa lehtedele ning piisava arvu röövikute puhul korrati seda mitmel alal (lisa 1). Röövikud koorusid kahes jaos perioodidel 3.-10. juuli 2017 (pesakonnad 1-10) ja 19.-26. juuli 2017 (pesakonnad 11-29). Kokku sai üles pandud 81 kotti ning neisse asustatud 728 röövikut.

Kottide seisukorda käidi kontrollimas kord nädalas alates nende metsa panekust kuni katse lõpuni septembris (perioodil 3. juuli-24. september 2017). Okste tuules murdumise või lehtede enneaegse närbumise tõttu tuli 18 kotti katse käigus ümber tõsta. Kottid eemaldati, kui nendes oli märgata nukke või kohe nukkuma hakkavaid röövikuid. Oksad lõigati puu küljest kotte avamata ning nukkude ja röövikute kottist eemaldamine toimus juba labori tingimustes.

2.2.2 Katsealade valik

Katse viidi läbi endises Tähtvere vallas, hetkel Tartu linna alla kuuluval alal, kesklinnast loodes. Piirkonnas valiti välja kaheksa katseala: Koidu (58°26'N, 26°30'E), Ihmakingu (58°25'N, 26°29'E), Kärevere (58°25'N, 26°29'E), Küti (58°25'N, 26°31'E), Tüki (58°24'N, 26°33'E), Kardla (58°25'N, 26°35'E), Vahtriku (58°24'N, 26°37'E) ja Tiksoja (58°24'N, 26°39'E) (joonis 1). Alad valiti sobivate puuliikide olemasolu alusel ning minimaalse kaugusega 500 meetrit üksteisest. Katsealade maksimaalne kaugus üksteisest oli 10 km.



Joonis 1. Katsealade asukohad kaardil. Kaart loodud programmis R ggmap paketi (Kahle ja Wickham, 2013).

2.2.3 Laboratoorsed tööd

Kottidest leitud juba nukkunud või kohe nukkuma hakkavad röövikud pandi ühekaupa Empera 124N polüstüreenist purkidesse, mis suleti ning tähistati. Purgid ja kaaned steriliseeriti tõmbekapi all H_2O_2 lahuses kolme minuti jooksul. Seejärel hoiti neid UV kiirguse käes 20 minutit ning jäeti laminaarkappi kuivama 12 tunniks. Igasse purki asetati nukkumissubstraadina eelnevalt kuus tundi $100^\circ C$ juures hoitud turbasammalt (*Sphagnum* sp.), mida niisutati Milli-Q destilleeritud veega.

Nädala möödudes nukud kaaluti, veenduti nende elusolekus ning pandi talvituma kolmeks kuuks pimedasse 2°C juurde (perioodil oktoober 2017 – jaanuar 2018). Peale talvitumist hoiti purke 24h valguse käes 22°C juures kuu aega (9. jaanuar – 14. veebruar 2018). Silmnähtava seeninfektsiooniga nukud eraldati ja seened määrati. Ülejäänud nukke hoiti toatingimustel (24°C, 12:12h päev/öö) kuu aega, selle aja jooksul koorusid elusatest nukkudest liblikavalmikud. Kuu aja möödudes lahati ikka veel nähtava patogeenita surnud nukud ning määrati seente olemasolu nuku pealt või seest. Selleks pandi nukkudel või valmikutel võetud proov kasvama eelnevalt kirjeldatud 2% agariga MEA söötmega Petri tassile, millelt hiljem määrati morfoloogiliste ja/või DNA tunnuste abil seene liik nagu eelnevalt kirjeldatud.

Iga liblikaisendi puhul fikseeriti üheksa tunnust: katses olnud putukaisendi number, seenetamine (seenpatogeen tuvastati või ei), seene liik või perekond, nuku kaal, katseala kood, kasvukoti kood, suremise elujärk (röövik, nukk, valmik), toidutaim ja periood (katse algus kas juuli alguses või juuli lõpus).

2.3 Andmeanalüüs

Välikatse andmete põhjal analüüsiti isendite seenhaigusega nakatumise (edaspidi seenetamise) sõltuvust nuku kaalust, toidutaimeliigist, katsealast, metsa viimise ajast ja sellest, millise elujärguni isend elas. Vastavas üldistatud lineaarses mudelis oli sõltuvaks muutujaks 'seenetamine' kui binaarne muutuja, mudel sobitati R süsteemi paketti lme4 (Bates jt., 2015) rakendades. Logit test viidi läbi mudelil, mille loomiseks kasutati Nelder-Mead'i optimeerimist. Kuna eeldatavasti avaldab nakatumisele mõju ka kott kui röövikute ühine keskkond, siis kaasati koti kood analüüsi juhusliku faktorina. Pesakonna number jäeti analüüsist välja, kuna antud faktor tekitas mudelisse singulaarsuse ega võimaldanud teste läbi viia. Tehti kaks analüüsi. Esiteks uuriti iga muutuja mõju seenetamisele ühe sõltumatu muutujaga analüüsides. Teiseks viidi läbi III tüüpi analüüs, kus mudelis olid kõik muutujad koos. Mudeli lihtsustamine ei muutnud kvalitatiivseid tulemusi ja seetõttu vastavaid tulemusi ei esitata. Lisaks tehti log-lineaarne test seenetanud isenditele eraldi, jagades seened obligatoorseks ja fakultatiivseteks entomopatogeenideks (täpsem määratlus tulemuste all). Sõltuvaks muutujaks võeti obligatoorse entomopatogeeni esinemine (binaarne 0/1) ning sõltumatuteks muutujateks olid fakultatiivsete patogeenide-saprootroofide arv, nuku kaal, katseala, metsa viimise aeg ja elujärk, milleni isend elas. Juhusliku faktorina kaasati jällegi „kott“. Andmeanalüüs viidi läbi tarkvaralaaiendusega R studio 1.0.143.

3 Tulemused

3.1 Liblikanukkedelt tuvastatud seened

Käesolevas peatükis käsitletakse nii aastatel 2014-2016 entomoloogialabori nukkudel kui ka 2017. a. välikatsest määratud seeni. Seeni leiti 245-l liblikalt, 134 entomoloogialabori ja 111 välikatse isendilt. Kokku tuvastati 17 erinevat seeneliiki 11-st sugukonnast, seitsmest seltsist ja viiest klassist (Lisa 2). Kõikide rohkelt esinenud (enam kui 10 korda isoleeritud) seeneliikide jaotus aastate vahel oli ühtlane, mis annab alust arvata, et seened tulid loodusest koos toiduga. Neli seeneliiki olid sellised, mida määrati ainult ühel liblikaliigil ja üks seeneliik, mida määrati kõigil viiel liblikaliigil. Ülejäänud seeneliike leiti asustamas 2-3 liblikaliiki. Kõige enam seenega nakatunud nukke (143) tuvastati harilikul valgevaksikul, järgnesid võsavaksik (66) ja salu-samblikuvaksik (14). Ainult kolm seeneisendit tuvastati nii kirju-kevadöölasel kui ka võrkvaksikul. Seened jaotati obligatoorseks ja fakultatiivseteks entomofaagideks kirjanduses leiduvate andmete alusel. Esimesse rühma kuulusid liigid, mida on leitud ainult lüljalgsetel või mõnel juhul ka teistel seentel. Siia kuuluvad sugukondade kedristõlvikulised (*Cordycipitaceae* Kreisel ex G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora) ja tungalteralised (*Clavicipitaceae* (Lindau) O.E. Erikss) esindajad. Selliste kriteeriumite alusel on obligatoorsed entomopatogeendid kõik seltsi helekottseenelaadsed (*Hypocreales*) leitud liigid v.a. saprotroofse strateegiaga perekondade *Fusarium*, *Mariannaea* G. Arnaud ex Samson, *Tilachlidiaceae* L. Lombard & Crous ja *Trichoderma* Pers. esindajad. Järgnevalt antakse ülevaade leitud seeneliikide esinemisest entomopatogeenidena. Eestile uued liigid on tähistatud tärniga (*).

3.1.1 Määratud entomofaagid

3.1.1.1 *Sordariomycetes*

Isaria farinosa (Holmsk.) Fr.

Cordycipitaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

Sünonüüm: *Paecilomyces farinosus* (Holmsk.) A.H.S. Br. & G. Sm.

Käesolevas töös tuvastati *I. farinosa* kokku 57 isendil: laborikatse 48 ja välikatse 9 isendil. Peremeeste hulka kuulusid harilik valgevaksik (10 laborikatsest, 9 välikatsest), võsavaksik (21), salu-samblikuvaksik (7) ja 10 liigini määramata nukku. Üks sagedasemaid seeni entomoloogia

labori nukkudel. *I. farinosa* on kosmopoliitne entomopatogeen. Teda on isoleeritud veest, mullast, taimedest, seentest ja lüljalgsetest (Zimmermann, 2008). Lüljalgsetest on teda enamasti leitud parasiteerimas liblikalistel (*Lepidoptera*), lestalistel (*Acari*), ämblikulistel (*Araneae*), mardikalistel (*Coleoptera*), kahetiivalistel (*Diptera*), nokalistel (*Hemiptera*), sarnastiivalistel (*Homoptera*), kiletiivalistel (*Hymenoptera*) ja võrktiivalistel (*Neuroptera*) (Greif ja Currah, 2007; Коваль, 1974; Zimmermann, 2008). Eesti naaberriikidest on teda kirjeldatud Soomes liblikalisel *Argyresthia conjugella* Zeller ning Venemaal sarnastiivalisel *Aleurodes proletella* L. (Коваль, 1974; Vänninen ja Hokkanen, 1997). Kuna seen on hästi äratuntav kollakas-valge mütseeli ja pudelikujuliste fialiidide järgi, mis tihedalt üksteise kõrval asetsedes moodustavad koos sidrunjate eoskettidega pintseljaid struktuure, siis suurem osa isendeid määrati morfoloogiliselt. Käesolevat liiki on määratud ka endofüüdina taimel *Cabomba caroliniana* A.Gray (Vega, 2008; UNITE).

Isaria sp (*Isaria* cf. *cicadae* Miq.) *

SH212418.07FU

Cordycipitaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

Käesolevas töös tuvastati kokku kolmel hariliku valgevaksiku nukul (kaks välikatses ja üks laborikatses) seen, mis määrati morfoloogia alusel kuuluvana perekonda *Isaria*. Neist tuvastatud ITS järjestused olid sarnaseimad (99%) *Cordyceps cicadae* (Miq.) Masee järjestustele. Need pärinevad Kagu-Aasiast kogutud materjalilt, sh ühelt liigini määramata liblikaliselt (UNITE). Troopikas ja subtroopikas on selle liigi teadaolevateks peremeesteks neli nokalise liiki (Hsu jt., 2015). Cummings (2009) määras oma doktoritöös Uus-Meremaalt kolm *I. cicadae* isolaati, mis parasiteerisid liblikaliste ja mardikaliste nukkudel. Cummings (2009) tegi ettepaneku nende isolaatide eristamiseks omaette liigina, kuigi morfoloogiliselt ning molekulaarselt olid nende erinevused *I. cicadae* omadest väga väikesed. *I. cicadae* eristub *I. farinosa*-st kõverdunud koniidide poolest. Tõenäoliselt hõlmab *I. cicadae* mitut krüptilist liiki ning edasised tööd peavad selgitama siinsete tüvede liigilise kuuluvuse.

Lecanicillium W. Gams & Zare

Cordycipitaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

Käesolevas töös määrati selle perekonna liike 52 isendil: harilikul valgevaksikul (24 välikatses, 5 laborikatses), võsavaksikul (16 nukul), võrkvaksikul (kahel nukul), salu-samblikuvaksikul (kahel nukul), kirju-kevadöölasel (ühel nukul) ning kahel liigini määramata nukul. Selle perekonna liigid on tuntud parasvöötme entomopatogeenid, keda on leitud ka Eestist (Sung jt., 2001; Teetor-Barsch ja Roberts, 1983). Morfoloogiliste tunnuste alusel määrati tüved

kuuluvaks nelja liiki: *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & W. Gams, *L. fungicola* (Preuss) Zare & W. Gams, *L. attenuatum* Zare & W. Gams ja *L. muscarium* (Petch) Zare & W. Gams. Neist saadud ITS piirkonna nukleotiidsed järjestused erinesid üksikute positsioonide osas, kuid ei võimaldanud liigi määramist ei USA Riikliku Biotehnoloogia Infokeskuse (NCBI) andmebaasi BLAST otsingu ega ka UNITE andmebaasi liigihüpoteesi määramist kasutades. Selles rühmas varieeruvad ITS piirkonna järjestused küllaltki vähe ning >99% (ka 100%) sarnasusega DNA järjestused on neis andmebaasides määratud eri liiki kuuluvateks. Käesolevat liigihüpoteesi on sekveneeritud üle maailma, meile lähimal Rootsisis ja Taanis. Perekonna *Lecanicillium* liike on leitud endofüütidena taimedel väga erinevatest sugukondadest (UNITE; Vega, 2008).

Simplicillium cf. lanosoniveum (J.F.H. Beyma) Zare & W. Gams *

SH196109.07FU

Cordycipitaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

S. lanosoniveum määrati üks kord labori katses kirju-kevadöölase nukul. ITS järjestuse alusel ei eristanud NCBI andmebaas BLAST otsing antud seent sõsarliigist *Simplicillium subtropicum* Nonaka, Kaifuchi & Masuma. Viimane jäeti liigikandidaatide hulgast välja, kuna seda on leitud ainult Ida-Aasiast (Nonaka jt., 2013). Laboratoorsed katsed on näidanud *S. lanosoniveum*-i entomopatoogeenseid kalduvusi (Lim jt., 2014). *S. lanosoniveum* tüve TYL001 patogeensus on tõestatud kilptäilise *Pseudaulacaspis pentagona* Targioni Tozzetti vastu (Wang jt., 2016). Endofüütidena on leitud *S. lanosoniveum* kummipuul (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg, UNITE). Täpselt samasuguse ITS rDNA järjestusega (100%) *Simplicillium* sp. on määratud Mehhikos sipelgapesast (Sen jt., 2009).

Metapochonia bulbillosa (W.Gams & Malla) Kepler, S.A.Rehner & Humber *

SH192574.07FU

Clavicipitaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

Sünonüüm: *Pochonia bulbillosa* (W.Gams & Malla) Zare & W.Gams

Käesolevas töös isoleeriti *M. bulbillosa* viiel nukul: kolmel harilikul valgevaksikul ning kahel võsavaksikul. Need on *M. bulbillosa* esmakordsed leiud liblikalistel. *Metapochonia bulbillosa* on tuntud kui nematoodide ja keriloomade patogeen. Teda on isoleeritud lähiriikides Taanis harilikul kuusel (*Picea abies* L. Karsten) (Stroheker jt., 2018) ja Soomes harilikul männil (*Pinus sylvestris* L.) (UNITE). *M. bulbillosa* teadaolevateks peremeesteks on hooghännaliste (*Collembola*) perekonna *Mitchellania* Wray liigid (Kepler jt., 2014). Käesolevat liigihüpoteesi on määratud Ukrainas karuüraskil *Hylurgus ligniperda* Fabricius (UNITE).

3.1.2 Saprootrofid – fakultatiivsed entomopatogeenid

3.1.2.1 Sordariomycetes

Fusarium armeniacum (G.A. Forbes, Windels & L.W. Burgess) L.W. Burgess & Summerell/ *F. sporotrichioides* Sherb

Nectariaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

Käesolevas töös määrati *Fusarium armeniacum*/*F. sporotrichioides* liike kümnel isendil: neljal harilikul valgevaksikul, kolmel võsavaksikul ning ühel kirju-kevadöölasel, salu-samblikuvaksikul ja ühel liigini määramata nukul. Tegu on kahe väga sarnase liigiga, mida on morfoloogiliste tunnuste alusel ning ITS rDNA järjestuste abil võimatu eristada. Perekonna *Fusarium* liigid on troopilise ja parasvöötme kliima muldades levinud saprootrofid. Neid on isoleeritud erinevatest taimedest (Gordon, 1960) ja putukatel seltsidest liblikalised, kahetiivalised ja mardikalised (Коваль, 1974). Teetor-Barsch ja Roberts (1983) määrasid perekonna *Fusarium* liigid nõrkadeks patogeenideks.

Mariannaea elegans (Corda) Samson

Nectariaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

M. elegans on väga tavaline parasvöötme saprootroof (Domsch jt., 1980). Sun ja Liu (2008) näitasid, et *M. elegans* põhjustas suure vahaleediku (*Galleria mellonella* L.) populatsioonis 6,7% suremust. Seda liiki esines ainult üks kord võsavaksiku nukul.

Tilachlidium brachiatum (Batsch) Petch

Tilachlidiaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

Tilachlidium brachiatum on saprootroofne seen, keda on isoleeritud väga erinevatelt substraatidelt (Mains, 1951). Ta on ennekõike tuntud, kui kõdunevate seente saprootroof (Gams, 1975, 1971). Käesolevas töös määrati seen kolmel võsavaksikul ja ühel võrkvaksikul.

Trichoderma koningii Oudem.

Hypocreaceae; Hypocreales; Hypocreomycetidae

T. koningii on Põhja-Ameerikas ja Euroopas levinud mullas ja kõduneval puidul (Samuels jt., 2006). Ta suudab toota proteaas prb1, mis viitab seene võimele parasiteerida putukatel (Shakeri ja Foster, 2007). Käesolevas töös määrati seen *T. koningii* kuuel isendil: kahel harilikul valgevaksikul, kahel võsavaksikul ning ühel salu-samblikuvaksikul ja ühel liigini määramata nukul.

3.1.2.2 *Dothideomycetes*

Aureobasidium pullulans (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud

SH195783.07FU

Sacrotheciaceae; Dothideales; Dothideomycetidae

Aureobasidium pullulans on väga sagedalt esinev kosmopoliitne saproob, keda on leitud madalsoodest kuni metsa fülloosfäärini (Domsch jt., 1980; Yurlova jt., 1999). Hetkel pole teada kirjandust tema esinemise kohta putukatel. Käesolevas töös isoleeriti *A. pullulans* ühe korra võsavaksikul ning korra identifitseerimata nukul. Antud liigihüpoteesi on määratud ühe korra Indias (UNITE)

Cladosporium cladosporioides (Fresen.) G.A. de Vries

SH217942.07FU

Cladosporiaceae; Capnodiales; Dothideomycetidae

Käesolevas töös määrati *C. cladosporioides* molekulaarselt vaid ühe korra salusamblikuvaksikul. Teda on määratud õhust, mullast, tekstiilist ja taimedest (Ellis, 1971). Seda liigihüpoteesi on määratud endofüüdina erinevatest taimesugukondadest ning ühe korra ka nematoodil Indias (UNITE). Käesolev töö on antud liigi esmakordne mainimine putukal.

3.1.2.3 *Eurotiomycetes*

Penicillium thomii Maire/ *Penicillium glabrum* (Wehmer) Westling

Aspergillaceae; Eurotiales; Eurotiomycetidae

Käesolevas töös määrati *P. thomii*/ *P. glabrum* kokku 29-l isendil: viieteistkümmel harilikul valgevaksikul (kolm laborikatsest, 12 välikatsest), 10-l võsavaksikul, kolmel salusamblikuvaksikul ning ühel liigini määramata nukul. Topuz jt. (2016) määratlesid seent *Penicillium glabrum*, nokalise *Bemisia tabaci* (Gennadius) ja ämblikulaadse *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) oportunistliku parasiidina. *Penicillium thomii* on määratud suurel vahaleedikul ja käsnainelasel *Lymantria dispar* L. (Humber, 1992; Sun jt., 2008).

Aspergillus P. Micheli ex Haller

Aspergillaceae; Eurotiales; Eurotiomycetidae

Käesolevas töös määrati seen *Aspergillus* sp. ühel harilikul valgevaksikul välikatsest. On leitud, et perekonna *Aspergillus* liigid parasiteerivad sihktiivalistel (*Orthoptera*) (Abbas jt., 1959;

Prinsloo, 1960), nokalistel (Cockbain ja Hastie, 1961) ja termiidilistel (*Isoptera*) (Beal ja Kais, 1962).

3.1.2.4 *Mortierellomycotina*

Mortierella verticillata Linnem.*

SH196779.07FU

Mortierellaceae; Mortierellales; Mortierellomycetes

Käesolevas töös määrati seen neljal isendil: kolmel võsavaksiku nukul ning ühel harilikul valgevaksikul välikatses. *Mortierella verticillata* on tavaline parasvöötme mullasaproob (Hendrix jt., 1971), olles selles regioonis üheks põhiliseks kõdu lagundajaks talvel (Carreiro ja Koske 1992). Luangsa-ard jt. (2017) on maininud seda seent nokaliste patogeenina.

3.1.2.5 *Mucoromycotina*

Umbelopsis ramanniana (Möller) W. Gams *

Umbelopsidaceae; Umbelopsidales; Mucoromycetes

Sünonüüm: *Mucor ramannianus* Möller

Käesolevas töös määrati *U. ramanniana* ühel võsavaksiku nukul. *Umbelopsis ramanniana* on üks levinumaid nn. ikkesseeni (endine hõimkond *Zygomycota*) arktilises ja parasvöötmelises kliimas (Domsch jt., 1980). Tema patogeensusust on mainitud kahetiivalisel *Oedemagena tarandi* L. (Коваль, 1974) ning puugil *Ixodes scapularis* Say (Tuininga jt., 2008).

Mucor hiemalis Wehmer – vesi-nutthallik

SH187073.07FU

Mucoraceae; Mucorales; Mucoromycetes

Käesolevas töös määrati *M. hiemalis* välikatses viiel harilikul valgevaksikul ning laborikatses ühel võsavaksikul. *Mucor hiemalis* on tavaline saprotroof. Heitor (1962) näitas oma katsetes kapsaöölasega *Mamestra brassicae* L., et *M. hiemalis* võib muutuda oportunistlikuks patogeeniks, kui putukas on vigastatud või stressis. Konkreetset liigihüpoteesi on määratud endofüüdina üle maailma (UNITE).

Mucor plumbeus Bonord – tina-nutthallik

Mucoraceae; Mucorales; Mucoromycetes

Käesolevas töös määrati *M. plumbeus* 41-l välikatses olnud hariliku valgevaksiku isendil. *M. plumbeus* on kosmopoliitne saprotroof mullas (Domsch jt., 1980). Kõnealune seen määrati enamasti morfoloogiliselt, kuna eristub hästi teistest selle perekonna liikidest oma väikeste väljakasvetega kolumella poolest.

3.2 Välikatse tulemused

Välikatse röövikutest jäi suve möödudes ellu 216 (~30 % metsa pandutest). Putukatele on suur suremus vastseas tüüpiline ning tuleneb ennekõike mitmesugustest parasitoididest, haigustest ja karnivooridest, aga ka taime kaitsemehhanismidest (toksiinid, paksud rakukestad), konkurentsist toiduallika üle või arenguks ebasobivatest keskkonnatingimustest (Cornell ja Hawkins, 1995). Kottides varieerus suremus 0-100%. Suurimad suremused olid Kardla ja Tüki katseala kottides, vastavalt 80% ja 72% röövikutest. Väikseim oli suremus Tiksojal, kus jäi ellu 45% kasvama pandud röövikutest.. Enne talvitumist suri 59 nukkuvat röövikut või nukku (27% välikatses saadud isenditest), neist 22-l tuvastati ka seen. Talvitumise läbi teinud hariliku valgevaksiku nukkude seas oli suremus 37% (58 isendit 157-st). Valmiku staadiumi saavutas 112 isendit. Kokku tuvastati välikatses seeni 14 röövikul (31% surnud röövikutest), 26-l nukul (44%) ja 40-l valmikul (36%).

Esimeses analüüsis, kus uuriti hariliku valgevaksiku seenetamise sõltuvust putukaisendi konditsiooninäitajatest ja keskkonnaparameetritest, ei tulnud ühegi muutuja mõju statistiliselt oluliseks ei sellises analüüsis, kus mudelisse olid kaasatud kõik sõltumatud muutujad korraga ega ka sellises, kus vaadeldav muutuja oli mudelis ainsana (Tabel 1.).

Tabel 1. Hariliku valgevaksiku seenetamise seos mõõdetud faktoritega. Juhusliku faktorina võeti mudelisse kott.

Mitmene III tüüpi analüüs

Faktori mõju üksinda

Faktor	Chisq	Df	Pr(>Chisq)	Chisq	Pr(>Chisq)
(Intercept)	0.834	1	0.36		
Asukoht	0.834	7	0.36	9.903	0.19
Nuku kaal	6.765	1	0.45	0.208	0.64
Puu liik	0.951	1	0.32	0.703	0.40
Koorumisaeg	0.795	1	0.37	0.025	0.87
Elujärk surses	0.684	1	0.40	2.237	0.32

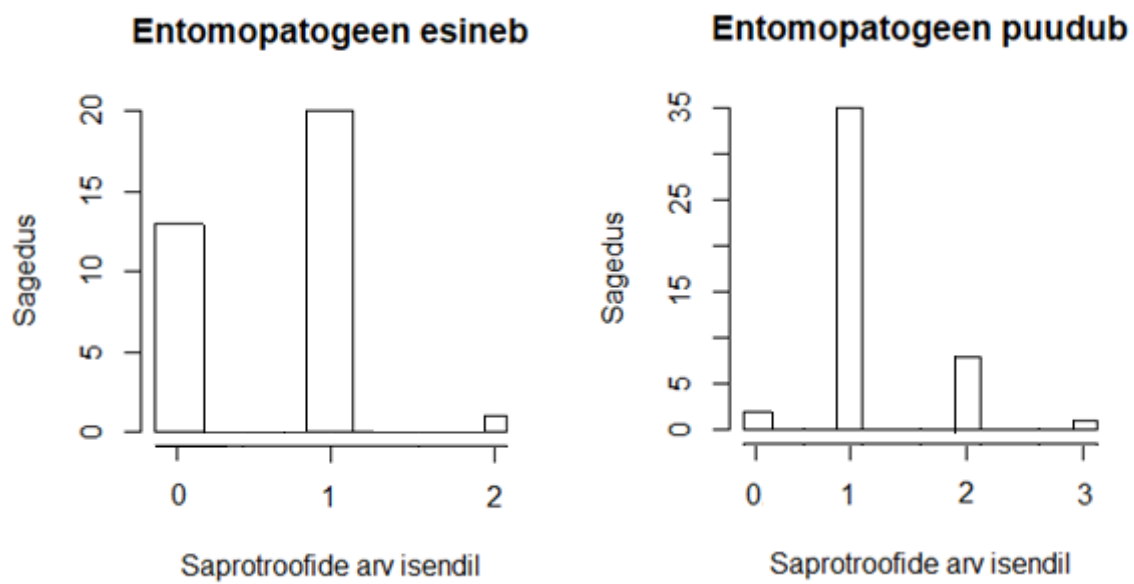
Küll tuli statistiliselt oluliseks fakultatiivsete patogeenide esinemise positiivne sõltuvus obligatoorsete entomopatogeensete seente esinemisest (tabel 2.). Selle sõltuvuse järgi on juba entomopatogeeniga nakatunud isenditel tihedamini lisaks ka saprotroofe, (joonis 2.). Analüüsis vaadatud obligatoorseid entomopatogeenseid seeni leidis 25 lepast toitunud isendil ja vaid üheksal kasest toitunud isendil, seos nakatumistõenäosuse ja puu liigi vahel siiski statistiliselt oluliseks ei osutunud.

Tabel 2. Nakatunud isenditel obligatoorsete entomopatogeensete seente esinemise seos saprotroofide esinemisega ja teiste mõõdetud faktoritega. Juhusliku faktorina kott.

III tüüpi analüüs

Mõju üksinda

Faktor	Chisq	Df	Pr(>Chisq)	Chisq	Pr(>Chisq)
(Intercept)	3.6623	1	0.055657		
Asukoht	6.1228	7	0.52	6.905	0.43
Saprotroof	7.4518	1	0.0063	10.445	0.00123
Nuku kaal	1.1754	1	0.27	1.917	0.16
Puu liik	3.0730	1	0.079	2.354	0.12
Koorumisaeg	0.1343	1	0.71	1.143	0.28
Elujärk surses	1.9603	1	0.16	1.283	0.52



Joonis 2. Erineva saprotoofsete seeneliikide arvuga isendite jaotus entomopatogeeni isenditel nakatunud isenditel (vasak histogramm) ja entomopatogeeni isenditel (parem histogramm).

4 Arutelu

Liblikatel leiti arvatust märksa enam entomofaage, kokku 18 liigist. Neist 17 oli varasemalt putukatel isoleeritud liigid, sh kuus, kes olid määratletud entomopatogeenidena. Tuvastati kaks obligatoorset entomopatogeenset liiki, mille esinemise kohta liblikalistel ei õnnestunud viiteid leida: *Metapochonia bulbillosa* ja *Tilachlidium brachiatum*. Eestile uusi seeneliike määrati viis: *Isaria* cf. *cicadae*, *Simplicillum* cf. *lanosoniveum*, *Metapochonia bulbillosa*, *Mortierella verticillata* ja *Umbelopsis ramanniana*. Neist esimese kahe puhul on ilmselt tegu veel kirjeldamata liikidega, mille taksonoomia, ökoloogia ja levik vajab edasist uurimist. Kuigi enamused määratud seentest ei paistnud eelistavat ühtegi liblikalise liiki teistele, oli näha seeneliikide *Isaria* cf. *cicadae* ja *Mucor plumbeus* spetsialiseerumist harilikule valgevaksikule. Kuna *I. cicadae* kirjeldati algselt kui nokaliste parasiiti, teda on aga määratud ka Uus-Meremaal liblikalistel (Cummings, 2009), siis võib tegu olla liikide kompleksiga. Eestist leitud seeni tuleks võrrelda Uus-Meremaa isolaatide ja nokalistel parasiteerivate isenditega, et näha, kas kõnealune seen on laiema peremeeste valikuga, kui siia maani teatakse, või on tegu hoopis mitmete krüptiliste liikidega, millest igäüks on kohastunud kasvama ühe putukarühma esindajatel. Perekonna *Mucor* liigid on suutelised nõrkadel putukatel haigust tekitama (Ignoffo jt., 1982). Keerulisemad suhted keskkonnaga looduslikes tingimustes võivad olla põhjuseks, miks *Mucor plumbeus* esines ainult metsakatse liikidel. Kõige vähem seeneliike määrati võrkvaksikult ja kirju-kevadöölalast, mis võib näidata nende suuremat resistentsust seenentomopatogeenide vastu, kuid putukaliikide võrdlemine sellest seisukohast vajaks siiski omaette spetsiifilise disainiga uurimust.

Välikatse tulemus, et saprotroofid olid sagedasemad koos obligatoorsete entomopatogeeniga isenditel (joonis 2.) toetab üldteada nähtust, et saprotroofid suudavad elada vaid nõrgestatud putukatel. Peremehe surma järgselt aga algab konkurents putuka surnud kudede üle.

Välikatse üks eesmärke oli vaadata, kas putuka nakatumine sõltub ainult putuka konditsioonist (füsioloogiline olek, geneetilised eeldused) või ka näiteks putuka toidust. Leiti nõrk (kuid mitte statistiliselt oluline, $p=0.08$) seos toidutaimel ja obligatoorsete entomopatogeenidega nakatumise vahel. Kirjanduses on teada, et toidutaimel võib olla tugev mõju entomopatogeeni eoste nakatamisefektiivsusele. On nimelt näidatud, et kahjustunud taimede eritatavad volatiilsed ühendid soodustavad seenese idanemist. Taimelehe morfoloogia ja füsioloogia võivad samuti mõjutada seenestega nakatumise tõenäosust, kas läbi putuka

liikumistrajektoori mõjutamise või lehepinna oleva kõrgema õhuniiskuse (Cory ja Ericsson, 2009). Samamoodi on putuka kutiikula proteiinide koostis pidevas muutumises ning sõltub otseselt toidutaimeliigist (Csikos jt., 1999). Toitainete koostis toidutaimes mõjutab ka kutiikula paksust ning putuka arengukiirust, mis on otseselt seotud entomopatogeeni nakatumise efektiivsuse/võimega ning nakatumiseks sobiva elujärgu pikema kestusega: kauem arenevat putukat on seenel rohkem aega nakatada (Cory ja Ericsson, 2009). Need omadused muudavad mõne taime putukale riskantsemaks toiduks ning lõppkokkuvõttes viia välja kindlatele taimedele spetsialiseerumise (Hartley ja Gange, 2009). Entomopatogeensete seentega nakatunud isendite suurem osakaal leppa toidutaimena kasutanud valgevaksikute hulgas võib tähendada, et leppa toitumine tõstab riski nakatuda parasiidiga.

Viimasel aastakümnel on lisandunud palju teavet entomopatogeensete seente esinemise üle endofüütidena (Boomsma jt., 2014; Harrison jt., 2016; Vidal ja Jaber, 2015). Selline kohastumus võimaldab üle elada perioode, mil putukaid ei ole või mil keskkonnatingimused ei soosi nakatumist. Putuka toidutaimes elamine tõstab entomopatogeeni tõenäosust kohata sobivat peremeest. Lisaks annab taim seenele kaitse väliskeskkonna mõjude eest ning soodustab eose sissesöömist (Cory ja Ericsson, 2009). Seen ei pea hakkama ressursse raiskama kitiinkesta läbistamisele ning võib koheselt asuda kudedest toituma (Boomsma jt., 2014). Herbivoor aitab omakorda kaasa seene vertikaalsele levikule eri taimede vahel (Harrison jt., 2016). On näidatud, et endofüütne entomopatogeen kasutab putukalt saadud lämmastikku toitainete vahetuses peremeestaimega (Barelli jt., 2016). Enamasti on aga uuritud ainult seen-taim, taim-putukas või putukas-seen suhteid, mis ei anna looduse kui terviku toimimisest ühtset pilti (Cory ja Ericsson, 2009). Rohkem oleks vajalik uurida seenentomopatogeeni ökoloogiat rohkem kui kahe osapoolega suhetes.

Kuigi käesoleva töö tulemused seda ei näita, võib erinevate entomopatogeenidega nakatumine olla seotud ka putuka elujärguga. Nii on näidatud, et tume-viljanaksuri (*Agriotes obscurus* L.) isendid olid seenele kõige vastuvõtlikumad nukkumise ajal, mida iseloomustab kesta koostise muutumine ning pehmenemine (Fox, 1961). Ka käesoleva töö tulemus, et surnud nukkudel tuvastati kõige rohkem seeni, võib olla seotud sama loogikaga. Sellised kesta morfoloogilise muutlikkuse perioodid võivad anda fakultatiivsetele entomopatogeenidele suuremaid võimalusi nakatada peremehti. Kerwin (1984) on näidanud, et kahetiivalise *Fannia canicularis* L. valmikud soodustasid nn. ikkesseene *Erynia variabilis* (Thaxt.) Remaud. & Hennebert eostel vegetatiivset kasvu, samas kui nukud põhjustasid eoste minemist puhkestaadiumisse. Võib olla, et mõned praeguste teadmiste juures fakultatiivseks

entomopatogeeniks/saprotoofiks määratud seened on hoopis kindlale putuka elutsükli nakatamisele spetsialiseerunud obligatoorsed patogeenid. See teema vajaks lähemat uurimist.

Putukate kehasuurus on tugevate ökoloogiliste valikusurve objektiks. Näiteks eelistavad putukatest karnivoorid väiksema kehasuurusega röövikuid, linnud aga suuremaid röövikuid. Eelistust määrab ühelt poolt see, et kellest veel jõud üle käib, kuid linnud on kohastunud saakobjektidele, kelle püüdmine on suurima energeetilise kasuteguriga. Erinevusi selgrootute kiskjate ja lindude eelisustes põhjustab ka see, et putuka kaitsemehhanismid ei ole lindude vastu nii tõhusad nagu putukate vastu (Remmel jt., 2011). Üldplaanis võiks seentest entomopatogeenide eelistusi määrata samalaadsed tegurid. Putuka keha suurus korreleerub väga hästi putuka kohasusega (Blanckenhorn, 2000; Stearns, 1992). Järelikult võib eeldada, et väiksema kaaluga putukate immuunvastus on ka kehvem kui suurematel. Ehk siis fakultatiivsed entomopatogeenid võiksid eelistada väiksema kehakaaluga isendeid, kusjuures obligatoorsete patogeenide suhtes hakkab määrama rolli spetsialiseerumine peremehele. Mida virulentsem on seen, seda vähem mõjutab putuka immuunvastus seene edukust. Putuka seisukohast tähendaks see survet võimalikult kiiresti saavutada suur kehakaal. Käesolevas katses seost kehakaalu ja seenetamise vahel siiski ei leitud.

Putukatel võib kohastumuseks parasitoidide vastu olla lisaks immuunvastusele ja käitumuslikele kohastumustele (nt nn päevitamine) ka loodusliku vaenlase ajaline vältimine. Nii on teada, et putukad on evolutsioneerunud ajastama oma elutsükleid vastavalt parasitoidide omadele (Gross, 1993). Lisaks võib abi olla ka ruumilisest vältimisest. Mikroelupaikade omadused on putukate, eriti liblikate, elumusele väga olulised ka üldisemas plaanis (Danks, 2007). Käesolev töö siiski ei leidnud, et seenentomopatogeeni edu/ebaedu sõltuks putuka asukohast või fenoloogiast. Selline tulemus viitab sellele, et patogeensete seeneoste levimine ruumis ja ajas ei varieeru piisavalt, et anda putukale võimalust infektsiooni elukäiguliselt vältida. Loomulikult tuleb käesoleva töö tulemust pidada esialgseks, sest paljud potentsiaalselt olulised aspektid jäid töös vaatluse alt välja. Näiteks võib eeldada, et puuvõrades elutsedes on putukal väiksem tõenäosus nakatuda seeneeostega kui maapinnal, kuid siinkirjeldatud katseid tehes ei olnud võimalik röövikuid puulatvadesse asustada.

Kokkuvõtlikult viitavad välikatse tulemused sellele, et seenpatogeenidega nakatumine on pigem juhusliku iseloomuga ega sõltu tugevalt putukaisendi omadustest (geneetiline taust, nukukaalu poolt mõõdetud konditsioon). Kui selline tulemus jääb kehtima ka edaspidistes, suurema mahuga uurimustes võib seenpatogeenide rolli valikusurve tekitajana putukate elukäigutunnustele pidada väheseks.

5 Kokkuvõte

Käesolevas töös uuriti entomopatogeensete seente esinemist harilikul valgevaksikul (*Cabera pusaria* L.), võrkvaksikul (*Chiasmia clathrata* L.), võsavaksikul (*Ematurga atomaria* L.), salusamblikuvaksikul (*Hypomecis punctinalis* Scopoli) ja kirju-kevadöölasel (*Orthosia gothica* L.) laboritingimustes ning h. valgevaksikul ka looduslähedastest tingimustes. 217 surnud nukul määrati 17 erinevat seeneliiki, millest viis olid Eestile uued: *Isaria* cf. *cicadae* Miq., *Simplicillum* cf. *lanosoniveum* (J.F.H. Beyma) Zare & W. Gams, *Metapochonia bulbillosa* (W. Gams & Malla) Kepler, S.A. Rehner & Humber, *Mortierella verticillata* Linnem. ja *Umbelopsis ramanniana* (Möller) W. Gams. Lüljalgsel teada olnud, kuid liblikalistel esmakordselt leitud patogeene oli kaks: *Metapochonia bulbillosa* ja *Tilachlidium brachiatum* (Batsch) Petch. Spetsialiseerumist harilikule valgevaksikule näitasid *Isaria* cf. *cicadae* ja *Mucor plumbeus*. Esimesel juhul võib tegu olla kompleksliigiga, mille osas on teadmised seene peremeestest veel puudulikud. Meie teadmised entomopatogeenide esinemisest nii geograafiliselt kui ka erinevatel peremeestel on veel puudulikud, mistõttu on vajalikud edasised uurimistööd sel teemal.

Teiseks uuriti hariliku valgevaksiku seenhaigusega nakatumise seost liblikaisendi omaduste ja tema geograafilise või ajalise paiknemisega. Ükski putuka elukäigu omadustest ei ilmutanud olulist mõju seenega nakatumisele, mis viitab võimalusele, et entomopatogeeni nakatumine toimub putukal pigem juhuslikult ning seened ei tekita olulist valikusurvet elupaiga kasutusele, putuka fenoloogiale või toidutaime valikule. Küll ilmnes, et esialgu nakatab putukat obligatoorne entomopatogeen ning peale surma liituvad konkurentsi toidu pärast fakultatiivsed entomopatogeenid või saprotroofid.

Tänuavaldused

Minu sügav tänu professionaalse ja kannatliku juhendamise eest Kadri Põldmaale ja Toomas Tammarule. Lisaks sooviksin tänada katsete teostamisel kaasa aidanud Kati Küngast, Merili Martverki, Hendrik Meisterit ja Daniel Valdmat.

Kasutatud kirjandus

- Abbas, H.M., Hasan, S.F., Haq, H., Hashir, M., 1959. *Aspergillus flavus* Link.-a fungus parasite of desert locust (*Schistocerca gregaria*, Forsk.). *Agr. Pakistan* 10, 195–206.
- Bacon, C.W., 1993. Abiotic stress tolerances (moisture, nutrients) and photosynthesis in endophyte-infected tall fescue. *Agriculture, Ecosystems & Environment, Acremonium/Grass Interactions* 44, 123–141. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(93\)90042-N](https://doi.org/10.1016/0167-8809(93)90042-N)
- Barelli, L., Moonjely, S., Behie, S.W., Bidochka, M.J., 2016. Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. *Plant Mol Biol* 90, 657–664. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0413-z>
- Beal, R.H., Kais, A.G., 1962. Apparent infection of subterranean termites by *Aspergillus flavus* Link. *Journal of Insect Pathology* 4, 488–489.
- Blackwell, M., 2000. Evolution. Terrestrial life--fungal from the start? *Science* 289, 1884–1885.
- Blanckenhorn, W.U., 2000. The Evolution of Body Size: What Keeps Organisms Small? *The Quarterly Review of Biology* 75, 385–407.
- Boomsma, J.J., Jensen, A.B., Meyling, N.V., Eilenberg, J., 2014. Evolutionary Interaction Networks of Insect Pathogenic Fungi. *Annual Review of Entomology* 59, 467–485.
- Carreiro, M.M., Koske, R.E., 1992. Effect of temperature on decomposition and development of microfungal communities in leaf litter microcosms. *Canadian Journal of Botany* 70, 2177–2183. <https://doi.org/10.1139/b92-269>
- Cockbain, A.J., Hastie, A.C., 1961. Susceptibility of the bed bug, *Cimex lectularius* Linnaeus, to *Aspergillus flavus* Link. *Journal of Insect Pathology* 3, 95–97.
- Cole, G.T., Hoch, H.C. (Eds.), 1991. *The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals*. Springer US.
- Cornell, H.V., Hawkins, B.A., 1995. Survival Patterns and Mortality Sources of Herbivorous Insects: Some Demographic Trends. *The American Naturalist* 145, 563–593.
- Cory, J.S., Ericsson, J.D., 2009. Fungal entomopathogens in a tritrophic context. *BioControl* 55, 75–88. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9247-4>
- Csikos, G., Molnar, K., Borhegyi, N.H., Talian, G.C., Sass, M., 1999. Insect cuticle, an in vivo model of protein trafficking. *Journal of Cell Science* 112, 2113–2124.
- Cummings, N.J., 2009. Entomopathogenic fungi in New Zealand native forests: the genera *Beauveria* and *Isaria*.
- Danks, H.V., 2007. The elements of seasonal adaptations in insects. *The Canadian Entomologist* 139, 1–44. <https://doi.org/10.4039/n06-048>
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.-H., 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press, London.
- Ellis, M.B., 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute.
- Fox, C.J.S., 1961. The incidence of green muscardine in the European wire worm, *Agriotes obscurus* (Linnaeus), in Nova Scotia. *Journal of Insect Pathology* 3, 94–95.
- Gams, W., 1975. The perfect state of *Tilachlidium brachiatum*. *Persoonia* 8, 329–333.
- Gams, W. (Walter), 1971. *Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes)*.
- Gordon, W.L., 1960. THE TAXONOMY AND HABITATS OF FUSARIUM SPECIES FROM TROPICAL AND TEMPERATE REGIONS I. *Canadian Journal of Botany* 38, 643–658. <https://doi.org/10.1139/b60-058>
- Greif, M.D., Currah, R.S., 2007. Patterns in the Occurrence of Saprophytic Fungi Carried by Arthropods Caught in Traps Baited with Rotted Wood and Dung. *Mycologia* 99, 7–19.
- Gross, P., 1993. Insect Behavioral and Morphological Defenses Against Parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* 38, 251–273. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001343>

- Gurulingappa, P., Sword, G.A., Murdoch, G., McGee, P.A., 2010. Colonization of crop plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta. *Biological Control* 55, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.06.011>
- Harrison, J.G., Urruty, D.M., Forister, M.L., 2016. An exploration of the fungal assemblage in each life history stage of the butterfly, *Lycaeides melissa* (Lycaenidae), as well as its host plant *Astragalus canadensis* (Fabaceae). *Fungal Ecology* 22, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.02.001>
- Hartley, S.E., Gange, A.C., 2009. Impacts of Plant Symbiotic Fungi on Insect Herbivores: Mutualism in a Multitrophic Context. *Annual Review of Entomology* 54, 323–342. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.54.110807.090614>
- Heitor, F., 1962. Parasitisme de blessure par le champignon *Mucor hiemalis* Wehmer chez les insecte. *Ann. Epiphytes* 13, 179–205.
- Hendrix, F.F., Campbell, W.A., Chien, C.Y., 1971. Some Phycomycetes Indigenous to Soils of Old Growth Forests. *Mycologia* 63, 283–289. <https://doi.org/10.2307/3757761>
- Hsu, J.-H., Jhou, B.-Y., Yeh, S.-H., Chen, Y.-L., Chen, C.-C., 2015. Healthcare Functions of *Cordyceps cicadae*. *Nutrition & Food Sciences*.
- Humber, R.A., 2008. Evolution of entomopathogenicity in fungi. *Journal of Invertebrate Pathology* 98, 262–266.
- Humber, R.A., 1992. Collection of entomopathogenic fungal cultures: catalog of strains. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service (ARS), Washington.
- Ignoffo, C.M., Garcia, C., Kroha, M.J., 1982. Susceptibility of larvae of *Trichoplusia ni* and *Anticarsia gemmatilis* to intrahemocoelic injections of conidia and blastospores of *Nomuraea rileyi*. *Journal of Invertebrate Pathology* 39, 198–202. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(82\)90010-6](https://doi.org/10.1016/0022-2011(82)90010-6)
- Inglis, G.D., Enkerli, J., Goettel, M.S., 2012. Chapter VII - Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales, in: Lacey, L.A. (Ed.), *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (Second Edition). Academic Press, San Diego, pp. 189–253. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00007-5>
- Jaber, L.R., Enkerli, J., 2017. Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth? *Biocontrol Science and Technology* 27, 28–41. <https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1243227>
- Kahle, D., Wickham, H., 2013. ggmap: Spatial Visualization with ggplot2. *The R journal* 5, 144–161.
- Kepler, R.M., Humber, R.A., Bischoff, J.F., Rehner, S.A., 2014. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics. *Mycologia* 106, 811–829. <https://doi.org/10.3852/13-319>
- Kerwin, J.L., 1984. Fatty acid regulation of the germination of *Erynia variabilis* conidia on adults and puparia of the lesser housefly, *Fannia canicularis* - *Canadian Journal of Microbiology*. *Canadian Journal of Microbiology* 30, 158–161. <https://doi.org/10.1139/m84-025>
- Kobmoo, N., Mongkolsamrit, S., Tسانathai, K., Thanakitpipattana, D., Luangsa-Ard, J.J., 2012. Molecular phylogenies reveal host-specific divergence of *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato following its host ants. *Mol. Ecol.* 21, 3022–3031. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05574.x>
- Kõljalg, U., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Tedersoo, L., Taylor, A.F.S., Bahram, M., Bates, S.T., Bruns, T.D., Bengtsson-Palme, J., Callaghan, T.M., Douglas, B., Drenkhan, T., Eberhardt, U., Dueñas, M., Grebenc, T., Griffith, G.W., Hartmann, M., Kirk, P.M., Kohout, P., Larsson, E., Lindahl, B.D., Lücking, R., Martín, M.P., Matheny, P.B., Nguyen, N.H., Niskanen, T., Oja, J., Peay, K.G., Peintner, U., Peterson, M., Põldmaa, K., Saag, L., Saar, I., Schüßler, A., Scott, J.A., Senés, C., Smith, M.E., Suija, A., Taylor,

- D.L., Telleria, M.T., Weiss, M., Larsson, K.-H., 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology* 22, 5271–5277. <https://doi.org/10.1111/mec.12481>
- Коваль, Э.З., 1974. Определитель энтомофильных грибов сср. Издательство “Наукова думка,” Киев.
- Lim, S.Y., Lee, S., Kong, H.G., Lee, J., 2014. Entomopathogenicity of *Simplicillium lanosoniveum* Isolated in Korea. *Mycobiology* 42, 317–321. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2014.42.4.317>
- Luangsa-ard, J.J., Mongkolsamrit, S., Thanakitpipattana, D., Khonsanit, A., Tasanathai, K., Noisriroom, W., Humber, R.A., 2017. Clavicipitaceous entomopathogens: new species in *Metarhizium* and a new genus *Nigelia*. *Mycological Progress* 16, 369–391. <https://doi.org/10.1007/s11557-017-1277-1>
- Mains, E.B., 1951. ENTOMOGENOUS SPECIES OF HIRSU? TELLA, TILACHLIDIUM AND SYNNEMATIUM. *Mycologia* 43, 691–718.
- Meister, H., Hämäläinen, H.R., Valdma, D., Martverk, M., Tammaru, T., 2018. How to become larger: ontogenetic basis of among-population size differences in a moth. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 166, 4–16. <https://doi.org/10.1111/eea.12634>
- Meister, H.E., 2017. Evaluating the role and measures of juvenile growth rate: latitudinal variation in insect life histories [WWW Document]. <https://doi.org/10.1111/oik.04233>
- Nonaka, K., Kaifuchi, S., Ōmura, S., Masuma, R., 2013. Five new *Simplicillium* species (Cordycipitaceae) from soils in Tokyo, Japan. *Mycoscience* 54, 42–53. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2012.07.002>
- Price, P.W., Denno, R.F., Eubanks, M.D., Finke, D.L., Kaplan, I., 2011. *Insect Ecology: Behavior, Populations and Communities*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511975387>
- Prinsloo, H.E., 1960. Parasitese mikroorganismen by die bruinsprinkaan *Locustana pardalina* (Walk.). *South African Journal of Agricultural Science* 3, 551–560.
- Rommel, T., Davison, J., Tammaru, T., 2011. Quantifying predation on folivorous insect larvae: the perspective of life-history evolution. *Biol J Linn Soc* 104, 1–18. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01721.x>
- Roy, H.E., Steinkraus, D.C., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Pell, J.K., 2006. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annu. Rev. Entomol.* 51, 331–357. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.150941>
- Samson, R.A., Evans, H.C., Latge, J.-P., 1988. *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Samuels, G.J., Dodd, S.L., Lu, B.-S., Petrini, O., Schroers, H.-J., Druzhinina, I.S., 2006. The *Trichoderma koningii* aggregate species. *Studies in Mycology* 56, 67–133. <https://doi.org/10.3114/sim.2006.56.03>
- Seifert, K., Morgan-Jones, G., Gams, W., Kendrick, B., 2011. *The Genera of Hyphomycetes*, CBS Biodiversity Series. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Sen, R., Ishak, H.D., Estrada, D., Dowd, S.E., Hong, E., Mueller, U.G., 2009. Generalized antifungal activity and 454-screening of *Pseudonocardia* and *Amycolatopsis* bacteria in nests of fungus-growing ants. *PNAS* 106, 17805–17810. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904827106>
- Shakeri, J., Foster, H.A., 2007. Proteolytic activity and antibiotic production by *Trichoderma harzianum* in relation to pathogenicity to insects. *Enzyme and Microbial Technology* 40, 961–968. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.07.041>
- Stearns, S.C., 1992. *The Evolution of Life Histories*. OUP Oxford.

- Stroheker, S., Weiss, M., Sieber, T.N., Bugmann, H., 2018. Ecological Factors Influencing Norway Spruce Regeneration on Nurse Logs in a Subalpine Virgin Forest. *Forests* 9, 120.
- Sun, B.-D., Liu, X.-Z., 2008. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. *Applied Soil Ecology* 39, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.12.001>
- Sun, B.-D., Yu, H., Chen, A.J., Liu, X.-Z., 2008. Insect-associated fungi in soils of field crops and orchards. *Crop Protection* 27, 1421–1426. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.07.010>
- Sung, G.-H., Spatafora, J.W., Zare, R., Hodge, K.T., Gams, W., 2001. A revision of *Verticillium* sect. *Prostrata*. II. Phylogenetic analyses of SSU and LSU nuclear rDNA sequences from anamorphs and teleomorphs of the Clavicipitaceae. *Nova Hedwigia* 311–328. <https://doi.org/10.1127/nova.hedwigia/72/2001/311>
- Teotor-Barsch, G.H., Roberts, D.W., 1983. Entomogenous *Fusarium* species. *Mycopathologia* 84, 3–16.
- Topuz, E., Erler, F., Gumrukcu, E., 2016. Survey of indigenous entomopathogenic fungi and evaluation of their pathogenicity against the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisd.), and the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B. *Pest Management Science* 72, 2273–2279. <https://doi.org/10.1002/ps.4266>
- Tuininga, A.R., Daniels, T.J., Falco, R., Morath, S., 2008. Distribution of entomopathogenic fungi and field tests of their potential as biocontrol agents for *Ixodes scapularis*. Presented at the 93rd ESA annual meeting, The Midwest Airlines Center, Milwaukee, Wisconsin.
- Vänninen, I., Hokkanen, H., 1997. Efficacy of Entomopathogenic Fungi and Nematodes Against *Argyresthia conjugella* (Lep.: Yponomeutidae). *Entomophaga* 42, 377–385.
- Vega, F.E., 2008. Insect pathology and fungal endophytes. *Journal of Invertebrate Pathology*, Special Issue for SIP 2008SIP 2008 98, 277–279. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.008>
- Vega, F.E., Goettel, M.S., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M.A., Keller, S., Koike, M., Maniania, N.K., Monzón, A., Ownley, B.H., Pell, J.K., Rangel, D.E.N., Roy, H.E., 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology* 2, 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2009.05.001>
- Vidal, S., Jaber, L.R., 2015. Entomopathogenic fungi as endophytes: Plant-endophyte-herbivore interactions and prospects for use in biological control. *Current science* 109, 46–54.
- Wang, N., Xie, Y.-P., FAN, J.-H., 2016. Pathogenicity of *Simplicillium lanosoniveum* TYL001 isolated from *Pseudaulacaspis pentagona*. *Mycosystema* 35, 559–568. <https://doi.org/10.13346/j.mycosystema.150182>
- Wilson, D., 1995. Endophyte: The Evolution of a Term, and Clarification of Its Use and Definition. *Oikos* 73, 274–276. <https://doi.org/10.2307/3545919>
- Yurlova, N.A., de Hoog, G.S., Gerrits van den Ende, A.H.G., 1999. Taxonomy of *Aureobasidium* and allied genera. *Studies in Mycology* 43, 63–69.
- Zimmermann, G., 2008. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology* 18, 865–901.

Lisad

Lisa 1. Hariliku valgevaksiku pesakondade numbrid ning toidutaimena kasutatud puude liigid koos neile pandud röövikute arvuga proovialade kaupa

Prooviala(Kood)	Pesakonna nr	Puuliik(mitu röövikut)
Koidu (RG1)	1	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	9	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	10	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	11	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	22	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
Ihmakingu (RG2)	3	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	5	<i>B.pubescens</i> (5), <i>A.incana</i> (10)
	12	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	13	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	14	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
Kärevere (RG3)	2	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	1	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (7)
	15	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	16	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (7)
Küti (RG4)	4	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	11	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	12	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (9)
	17	<i>B.pendula</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	18	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	25	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
Kardla (RG5)	4	<i>B.pendula</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	6	<i>B.pendula</i> (5), <i>A.incana</i> (5)
	18	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	21	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	22	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
Tüki (RG6)	4	<i>B.pendula</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	5	<i>B.pendula</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	19	<i>B.pubescens</i> (13), <i>A.incana</i> (10)
	20	<i>B.pendula</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	26	<i>B.pendula</i> (10), <i>A.incana</i> (8)
Vahtriku (RG7)	7	<i>B.pubescens</i> (7), <i>A.incana</i> (7)
	3	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	11	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
	18	<i>B.pubescens</i> (2), <i>A.incana</i> (1)
	27	<i>B.pubescens</i> (10), <i>A.incana</i> (10)
Tiksoja (RG8)	4	<i>B.pendula</i> (10)
	5	<i>A.incana</i> (7)
	8	<i>B.pendula</i> (3), <i>A.incana</i> (5)
	11	<i>B.pendula</i> (10), <i>A.incana</i> (10)

27	<i>B.pubescens</i> (3), <i>A.incana</i> (3)
28	<i>B.pubescens</i> (4), <i>A.incana</i> (10)
29	<i>A.incana</i> (7)

Lisa 2. Määratud seened ning nende esinemissagedus liblikaliikidel.

Seen	H. valgevaksik (143) (mets+labor)	Võsavaksik (66)	Võrkvaksik (3)	Salu- samblikuvaksik (14)	Kirju-kevadöölane (3)	Tundmatu nukk (7)	Kokku
Sordariomycetes							
Hypocreales							
Cordycipitaceae							
<i>I. farinosa</i>	19 (9 + 10)	21	-	7	-	1	57
<i>I. cf. cicadae</i>	3 (2 + 1)	-	-	-	-	-	3
<i>Lecanicillium sp.</i>	33 (24 + 9)	16	2	2	1	2	56
<i>S. lanosonievum</i>	-	-	-	-	1	-	1
Clavicipitaceae							
<i>M. bulbillosa</i>	3 (0 + 3)	2	-	-	-	-	5
Tilachlidaceae							
<i>T.brachiatum</i>	-	3	1	-	-	-	4
Nectriaceae							
<i>Fusarium armeniacum/</i>							
<i>F. sporotrichioides.</i>	9 (6 + 3)	4	-	2	1	1	17
<i>Mariannaea elegans</i>	-	1	-	-	-	-	1
Hypocreaceae							
<i>Trichoderma sp.</i>	8 (6 + 2)	2	-	1	-	1	12
Eurotiomycetes							
Eurotiales							
Aspergillaceae							
<i>Penicillium thomii/ P.glabrum</i>	19 (12 + 7)	10	-	3	-	1	33
<i>Aspergillus sp.</i>	1 (1 + 0)	1	-	-	-	-	2
Dothideomycetes							
Dothideales							
Sacotheciaceae							
<i>Aureobasidium pullulans</i>	-	1	-	-	-	1	2

Capnodiales							
Cladosporiaceae							
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	-	-	1	-	-	1
Mortierellomycetes							
Mortierellales							
Mortierellaceae							
<i>Mortierella verticillata</i>	2 (2 + 0)	3	-	-	-	-	5
Mucoromycetes							
Mucorales							
Mucoraceae							
<i>Mucor hiemalis</i>	5 (5 + 0)	1	-	-	-	-	6
<i>Mucor plumbeus</i>	41 (41 + 0)	-	-	-	-	-	41
Umbelopsidales							
Umbelopsidaceae							
<i>Umbellopsis ramanniana</i>	-	1	-	-	-	-	1

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Robin Gielen,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„Liblikatel parasiteerivate seente liigirikkus ja ökoloogia“

mille juhendajad on vanemteadur Kadri Pöldmaa ja professor Toomas Tammaru,

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

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

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

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

Tartus 23.05.2018