

Tartu Ülikool  
Bioloogia-Geograafiateaduskond  
Zooloogia ja hüdrobioloogia instituut  
Zooloogia õppetool

Marko Prous

**Lehevaablaste liigirühma  
*Empria longicornis* (Thomson) taksonoomiast, morfoloogiast ja bioloogiast  
(Hymenoptera, Tenthredinidae)**

**Magistritöö zooloogias**

Juhendaja: Mikk Heidemaa, *PhD*

Tartu 2007

## Sisukord

Sissejuhatus .....	3
Kirjanduse ülevaade ja <i>Empria longicornis</i> liigirühma taksonoomiast.....	5
Materjal ja meetodid.....	6
Tulemused .....	13
<i>Empria longicornis</i> liigirühma vastsete morfoloogia ja bioloogia.....	13
Üldiseloomustus .....	13
<i>Empria alector</i> Benson, 1938.....	14
<i>Empria longicornis</i> (Thomson, 1871).....	15
<i>Empria tridens</i> (Konow, 1896).....	15
<i>Empria basalis</i> Lindqvist, 1968 .....	16
<i>Empria longicornis</i> liigirühma valmikud .....	17
Emaste morfomeetria.....	17
Isaste morfomeetria .....	22
Molekulaarsed analüüsid .....	30
<i>Empria longicornis</i> liigirühma vastsete ja valmikute määramistabelid .....	34
Valmikud .....	34
Vastsed .....	37
Arutelu.....	39
Kokkuvõte .....	43
Summary.....	44
Kasutatud kirjandus .....	45
Lisa 1. Vastsete ja valmikute joonised .....	49
Lisa 2. Fülogeneetiliste analüüside kladogrammide .....	60
Lisa 3. Hajuvusdiagrammid.....	61
Lisa 4. Morfomeetriliste mõõtmiste ja analüüside andmed.....	66

## Sissejuhatus

Perekond *Empria* Le Peletier & Audinet-Serville, 1828 kuulub alamsugukonda Allantinae lehevaablaste (Tenthredinidae) sugukonnas kiletiivaliste (Hymenoptera) seltsis. Selles holarktilise levilaga perekonnas on kirjeldatud 48 liiki (lisaks on teada üks fossiil), millest 38 on levinud Palearktises ja 12 Nearktises (10 neist on endeemsed) (Taeger & Blank, 2006). Eestist on selles perekonnas praeguseks leitud 14 liiki (Viitasaari *et al.*, 1998; Heidemaa, 2006). Lehevaablased on fütogaagid ja nende hulgas on ülekaalus valdavalt mono- ja oligofaagsed liigid. Perekond *Empria* liikide toidutaimed kuuluvad roosõieliste (Rosaceae), kaseliste (Betulaceae) ja pajude (*Salix* spp.) hulka (Lacourt, 1999; Smith, 1979a, b). Enamik liike perekonnas on sümpatrilised.

Perekond *Empria* valmikuil on tagakeha tergiitidel valkjad laigud, mille järgi on neid teistest lehevaablastest kerge eristada. Liikide eristamine perekonna sees on keerulisem, mitmes liigirühmas on liikide eristamine isegi genitaalide põhjal võrdlemisi problemaatiline.

Üheks selliseks liigirühmaks on *E. longicornis* liigirühm. Liigirühm on esialgselt defineeritud isaste genitaalide järgi, mis on omavahel väga sarnased, kuna selged diskreetsed erinevused puuduvad (vt. Lindqvist, 1968). Sellesse palearktilise levikuga rühma kuuluvad järgmised liigid: *E. longicornis* (Thomson, 1871), *E. tridens* (Konow, 1896), *E. alector* Benson, 1938, *E. basalis* Lindqvist, 1968, *E. loktini* Ermolenko, 1971 ja *E. konowi* Dovnar-Zapolskij, 1929, millest neli esimest on teada ka Eestist (Viitasaari *et al.*, 1998). *E. loktini* on seni leitud ainult Sahhalini saarelt (Ermolenko, 1971) ning liik *E. konowi* Ukrainast ja Venemaalt (Taeger *et al.*, 2006). *Empria longicornis* liigirühmale on lähedaseks liigiks *E. gussakovskii* Dovnar-Zapolskij, 1929, mille alamliike *E. gussakovskii gussakovskii* Dovnar-Zapolskij, 1929 ja *E. gussakovskii alpina* Benson, 1938 käsitletakse mõnikord ka eraldi liikidena (Lacourt, 1999). Holarktiline *E. g. alpina* on arktoalpiinse levilaga (Lacourt, 1999), *E. g. gussakovskii* (sünonüüm *E. minuta* Lindqvist, 1968) on teada Soome, Ukraina ja Venemaa tasandikelt (Zhelochovtsev & Zinovjev, 1988; Taeger *et al.*, 2006).

*Empria longicornis* liigirühma toidutaimed kuuluvad roosõieliste hulka (Lacourt, 1999), kuid on seni teada ainult kolme liigi jaoks. Liikide *E. longicornis* (sünonüüm *E. rubi* Kontuniemi, 1951) ja *E. tridens* vastseid on kasvatatud vaarikal (*Rubus idaeus*) (Miles, 1936; Kontuniemi, 1951; Lorenz & Kraus, 1957) ja liiki *E. alector* angervaksal (*Filipendula ulmaria*) (Kontuniemi, 1955). Liigi *E. longicornis* toidutaimedeks on pakutud ka angervaksa (Kontuniemi, 1951) ja metsmaasikat (Zhelochovtsev & Zinovjev, 1988), kuid nendelt

taimedelt *ex ovo* kasvatusi läbi viidud ei ole. Conde (1934) järgi toitub *E. tridens* lisaks vaarikale ka mõõlal (*Geum*). Liikide *E. basalis*, *E. konowi* ja *E. loktini* toidutaimed on teadmata, kuid viimast on püütud kamtšatka angervaksalt (*Filipendula kamtschatica*) (Ermolenko, 1971).

Ainsaks usaldusväärseks viisiks liikide eristamisel *E. longicornis* liigirühmas, on seni olnud emaste munetite struktuur (Lindqvist, 1968; Zhelochovtsev & Zinovjev, 1988). Isaseid praegused määramistabelid (Zhelochovtsev & Zinovjev, 1988) usaldusväärset määrata kahjuks ei võimalda.

Kuna isaste genitaalid *E. longicornis* liigirühmas on väga sarnased, siis võiks nende eristamisel kasu olla geomeetrilise morfomeetria meetoditest, mis kujunesid välja 1980. aastate lõpuks ja mida kasutatakse erinevate bioloogiliste küsimuste lahendamiseks üha enam (Zelditch *et al.*, 2004). Geomeetrilist morfomeetriat on lähedaste liikide eristamiseks varem juba kasutatud (e. g. Mutanen, 2005; Mutanen & Pretorius, 2007; Rufino *et al.*, 2006). Geomeetriline morfomeetria põhineb homoloogsete anatoomiliste lookuste e. *landmarkide* (edaspidi on siin töös kasutatud vastet „võrdluspunkt”) koordinaatide analüüsil. Analüüsil kõrvaldatakse erinevused objektide vahel, mis on tingitud nende asukohast, orientatsioonist ja suuruselt (skaalast) ning see võimaldab võrrelda erinevusi pelgalt objektide kujus. Geomeetriline morfomeetria on eelistatum võrreldes traditsioonilise morfomeetriaga, kuna ei pea mõõtma kõikvõimalike kaugusi valitud punktide vahel (punktide arvu suurenedes suureneb kiiresti erinevate mõõdetavate kauguste arv: näiteks 5 võrdluspunkti korral 10, 15 võrdluspunkti korral 105 jne.) ja kaduma ei lähe olulist infot kuju kohta.

Kuna andmed *E. longicornis* liigirühma morfoloogia ja bioloogia kohta on puudulikud, siis oli töö eesmärgiks:

Leida tundlate ja genitaalide põhjal tunnuseid, mille järgi saaks valmikuid paremini eristada.

Kindlaks teha liikide toidutaimed *ex ovo* kasvatuste põhjal ja kontrollida, kas iga liigi puhul on nende eri sugupooled seni ikka õigesti seostatud või on mõne liigi üks sugupool ekslikult seostatud mõne teise liigi vastassugupoolega.

Leida tunnuseid, mis võimaldaks eristada eri liikide vastseid.

Koostada uued ja paremad valmikute ja vastsete määramistabelid.

Lisaks eelnevatele eesmärkidele püüti molekulaarste andmete põhjal püstitada ka esialgsed hüpoteesid liigirühma fülogeneesi kohta.

## Kirjanduse ülevaade ja *Empria longicornis* liigirühma taksonoomiast

Esimene liik *Empria longicornis* liigirühmas kirjeldati nime all *Poecilosoma longicornis* (Thomson, 1871: 232). Liigi *Empria tridens* esmaskirjelajaks on F. W. Konow, kes kirjeldas selle nime all *Poecilosoma tridens* (Konow, 1896: 58). Liikide *E. longicornis* ja *E. tridens* nomenklatuurseteks tüüpideks on süntüüpide seeriad. Dovnar-Zapolskij (1929) kirjeldas ja nimetas binoomenid *E. caucasica* ja *E. konowi*, kuid esimest neist käsitles Conde (1940) liigina *E. tridens*. Liigi *E. konowi* taksonoomiline staatus on ebaselge, kuna kirjanduses puuduvad joonised selle emase muneti kohta (kuigi Zhelochovtsev & Zinovjev, 1988 määraja järgi otsustades peaks see sarnanema liigi *E. tridens* omale) ja Benson (1938) järgi võib tegemist olla liigi *E. tridens* äärmusliku värvusvormiga. Neljas liik *E. longicornis* liigirühmas – *E. alector* – kirjeldati Benson (1938) poolt. Kontuniemi (1951) poolt kirjeldatud *E. rubi* loevad hilisemad autorid liiki *E. longicornis* (Lindqvist, 1968) kuuluvaks. Seni on kõige põhjalikumalt *E. longicornis* liigirühma käsitlenud Lindqvist (1968), kes kirjeldas liigi *E. basalis* ja üritas samas ka esmakordselt isaseid genitaalide põhjal eristada. Viimasena on liigirühmas kirjeldatud Ermolenko (1971) poolt *E. loktini*, mis erineb teistest liikidest selle poolest, et paarilised valkjad laigud on tagakehal ainult II ja III tergiidil, teistel liikidel on need olemas vähemalt ka IV tergiidil. Teine erinevus, mille järgi liiki *E. loktini* teistest eristada saab, on munetihammaste (*serrulae*) arv: liigil *E. loktini* on neid 13, kuid teiste liikide emastel tavaliselt 16–18.

## Materjal ja meetodid

*Kogumine ja kasutatud kollektsioonimaterjalid.* Valmikuid koguti loodusest kahapüügil. Isased surmati sügavkülmas ja nõelastati. Emastega viidi läbi *ex ovo* kasvatuskatsed. Nõelastatud materjalid on pärit järgnevatest kollektsioonidest (täpsemalt vt. lisa 4, tabel 9 ja 10):

Zoological Museum of University of Copenhagen (ZMUC), Kopenhaagen, Taani;

Museum of Zoology (MZLU), Lund, Rootsi;

Finnish Museum of Natural History (FMNH), Helsinki, Soome;

Mikk Heidemaa (TÜ ZHI) erakollektsioon, Tartu, Eesti;

Autori erakollektsioon, Eesti.

Tüüpmaterjalidest kasutati järgnevaid isendeid:

*Empria basalis* Lindqvist, 1968 – allotüüp ♂ (FMNH);

*Poecilosoma longicornis* Thomson, 1871 – süntüübid 1 ♀ 2 ♂♂ (holotüüp puudub; MZLU).

Töösse ei võetud kõiki isendeid loetletud kollektsioonidest, vaid valik tehti selliselt, et igast *E. longicornis* rühma liigist oleks nii emaseid kui isaseid vähemalt 10 isendit; seejuures oli oluline, et analüüsisesse saaks võtta isendid, kelle määramisel tekkis raskusi.

*Vastsete kasvatamine.* Vastsete kirjeldamiseks, peremeestaimede kindlaks tegemiseks ja isaste määrangute kontrolliks viidi läbi *ex ovo* kasvatused. Selleks kasutatud emased saadi looduset peamiselt kahapüügil, kuid mõnel juhul kasutati ka vastsetest kasvatatud emaseid. *Ex ovo* kasvatused viidi läbi siseruumides aastatel 2004–2007. Enne toidutaimi istutamist lillepotti või plastanumasse kontrolliti visuaalselt, et taimele ei oleks eelnevalt munetud. Lillepotti istutatud taim kaeti läbipaistva kilekotiga, mis kinnitati lillepoti külge kummipaelaga. Kilekoti ülanurka lõigati avaus, mille kaudu sai emaseid munemise jaoks peremeestaimele paigutada. Kilekoti ülanurka tehtud ava suleti seejärel kirjaklambriga. Kilekotile torgati õhuvahetuse eesmärgil ka hulgaliselt tillukesi avausi. *Ex ovo* kasvatuskatsete jaoks kasutati ka 5 või 7 1 läbipaistvaid plastanumaid, mis olid lõigatud alumiseks ja ülemiseks osaks, kusjuures taim asetati alumisele osale ja kaeti ülemise osaga. Samuti torgati plastanumate puhul õhuvahetuseks hulgaliselt tillukesi avausi. Läbipaistvate kilekottide või plastanumate abil oli võimalik hoida vajalikku niiskuse ja valgustatuse taset, jälgida munevaid emaseid ning vältida emaste põgenemist. Valmikuid toideti Petri tassis, kasutades suhkrulahusega niisutatud pehmet paberit. Munadest koorunud vastsed asetati Petri tassidesse kas pehme pintsliga või

kääridega äralõigatud taimelehe või -varrega. Enamasti oli ühes Petri tassis üks kuni kolm isendit. Üheskoos kasvatatavate isendite väiksem arv on vajalik eelkõige asustustihedusest tingitud stressi ja infektsioonide vältimiseks (Viitasaari, 2002). Kord ühe või kahe ööpäeva jooksul vahetati toidutaimede lehti. Selleks, et taimeosa kauem värske püsiks, mähiti iga kord varre ümber niisket paberit. Kõik vastsekestad koguti kokku ja säilitati. Kui võimalik, siis fikseeriti igast vastsejärgust vähemalt üks isend. Fikseerimiseks kasutati 70–80% või 96% etanoolilahust. Eelnukkudest enamus asetati talvitumiseks klaaspurki või 0,5 l plastanumasse, mille põhja oli pandud mõne cm paksune steriliseeritud liivakiht ja mille peale asetati veel turbasammalt (hallitamise vältimiseks) ja vaarika- või seest õõnsate taimevarte tükke. Anumad eelnukkudega viidi keldrisse talvituma. Veebruaris-märtsis toodi eelnukud järkjärgult toatemperatuurile ja vajadusel niisutati anumate sisu kuni valmikud koorusid.

*Morfoloogilised meetodid ja analüüsid.* Liikide eristamiseks *Empria longicornis* liigirühmas valiti mõõtmisteks ja analüüsideks tundlapiug (*flagellum*), emaste munetid ja isaste peenisvalvid, kuna need anatoomilised struktuurid varieeruvad piisavas ulatuses, et potentsiaalselt eristada liike. Flagellomeeride (tundlapiu lülide) maksimaalsete pikkuste ja laiuste mõõtmised tehti binokulaariga Olympus SC61, mille ühes okulaaris oli mõõteskaala. Samuti mõõdeti peakapsli laius liitsilmade tagant ja tagumiste liitsilmade vaheline kaugus (POL). Mõõtmistulemused teisendati millimeetriteks binokulaari Olympus SC61 alla asetatud kalibratsiooniskaala abil. Peenisvalvide uurimiseks eraldati isastelt genitaalkapslid, mida seejärel hoiti pehmete kudede lahustamiseks 16–24 tundi 10–15% KOH või NaOH lahuses; pärast seda eraldati binokulaari abil kapslitest peenisvalvid, kasutades entomoloogilisi nõelu. Munetid eraldati emastelt žileti abil (ei leotatud KOH või NaOH lahuses). Peenisvalvid ja munetid sulundati alusklaasil kas euparaali (tehti püsipreparaadid) või glütseriini ning kaeti katteklaasiga digitaalsete mikrofotode tegemiseks. Peenisvalvide ja munetite morfomeetriliseks analüüsiks oli tarvis, et kõik analüüsitavad objektid asuksid enam-vähem ühel tasapinnal. Kuna peenisvalvid ei ole piisavalt tasapinnalised objektid, siis tuli leida kompromiss deformatsioonide (tekivad katteklaasi liiga tugeval peale surumisel) ja valvide külgvaates erinevatele tasanditele fikseerumise vahel (katte- ja alusklaasi vahel jääv liiga avar ruum laseb peenisvalvil pöörelda ümber oma anterio-posterioorse telje). Kuid siiski tuli prepareerimisel ette juhte kui peenisvalvid deformeerusid liiga palju või jäid külgvaates erinevatele tasanditele. Munetite puhul ei olnud nende fikseerumine külgvaates erinevatele tasanditele nii suureks probleemiks kui peenisvalvide puhul. Siiski oli munetite puhul probleemiks see, et nende keskosa oli tavaliselt paindunud, mistõttu keskmised segmendid osaliselt kattusid; lisaks olid mitmel juhul viimased segmendid puudu. Joonisel 1A toodud lineaarsed kaugused mõõdeti peenisvalvide digitaalsete mikrofotode peal, kasutades

programmi ImageJ 1.36b (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>); võimalusel mõõdeti nii vasak kui parem pool valvist ning arvutati mõõdetud väärtuste keskmised. Munetite ja peenisvalvide üldist kuju analüüsiti geomeetrilise morfomeetria meetoditega. Joonistel 1B ja 1C on toodud need punktid e. anatoomilised lookused (*anatomical loci, landmarks*), mida kasutati morfomeetrilistes analüüsides. Punktid valiti nii, et need oleksid igal isendil kergesti leitavad, homoloogsed, võimalikult hästi esindaks üldist kuju ning, et saaks analüüsida võimalikult paljusid isendeid (arvestades preparaerimisel tekkinud deformatsioone).

Peenisvalvide puhul võeti analüüsi järgmised anatoomilised lookused (nummerdus vastavalt joonisele 1B):

- 1 – Valvitsepsi ventro-apikaalse hammasja väljakasvu alus (vastav struktuur pole joonisel 1B näha, vt. lisa 1, joon. 20A).
- 2 – Valvitsepsi hammaste rea esimese hamba alus.
- 3 – Pool-võrdluspunkt, mis jääb umbkaudselt ühekaugusele võrdluspunktide 2 ja 4.
- 4 – Valvitsepsi hammaste rea viimase hamba alus.
- 5 – Valvitsepsi ventro-basaalse osa äärmine punkt.
- 6 – Pool-võrdluspunkt, mis jääb umbkaudselt ühekaugusele võrdluspunktide 6 ja 7.
- 7 – Valvitsepsi ja valvura ventraalne liitumispunkt.
- 8 – Valvura basaalse tipu äärmine punkt.
- 9 – Valvitsepsi ja valvura dorsaalne liitumispunkt.

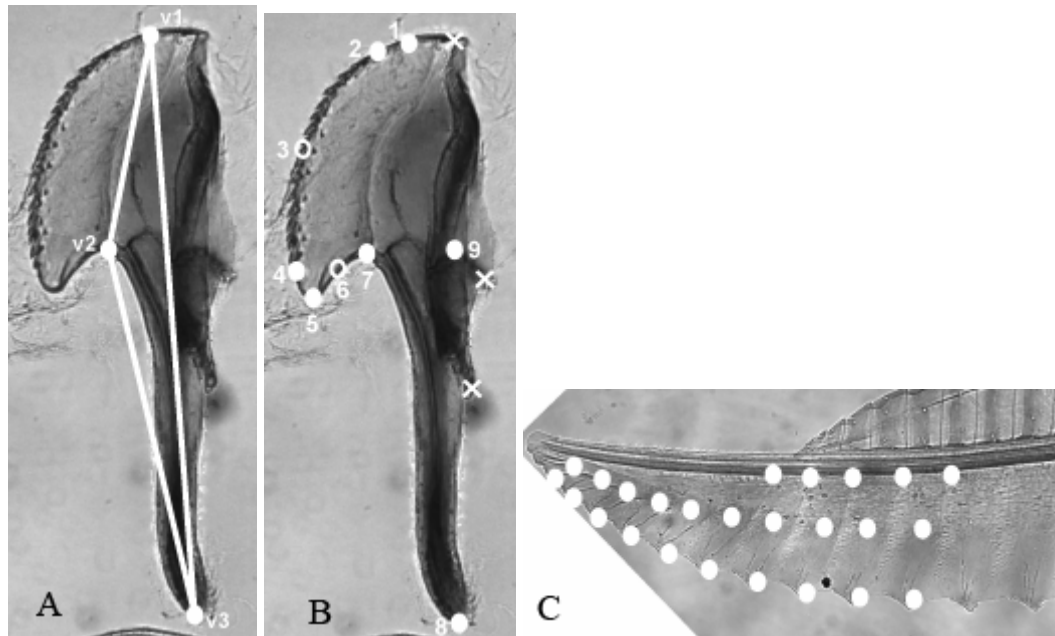
Peenisvalvide terminoloogia on Viitasaari (2002) ja Schulmeister (2003) järgi (lisa 1, joon. 20A). Joonisel 1B on ristidena märgitud peenisvalvide võrdluspunktid, mida oleks võinud kasutada, kuid tuli välja jätta põhjusel, et need asusid kõige kergemini deformeeruvates osades ja olid seetõttu peaaegu igas preparaadis teiste peenisvalvide piirkondade suhtes asetunud isemoodi.

Munetite puhul võeti analüüsi kolmes reas asuvad võrdluspunktid (joon. 1C): dorsaalsed võrdluspunktid paiknevad kõrvuti asetsevate munetisegmentide vahel, keskmised mediaalsete sensillide pooridel ja alumised munetihammaste dorso-basaalsel osal. Munetite terminoloogia on Viitasaari (2002) järgi (lisa 1, joon. 20B). Dorsaalseid võrdluspunkte on vähem kui teisi, sest apikaalsemate munetisegmentide vahelist piiri oli oluliselt raskem identifitseerida.

Geomeetrilise morfomeetria analüüsidesse võeti võimalusel nii vasak kui parem pool munetist ja peenisvalvist. Võrdluspunktid digiteeriti, st. nende koordinaadid salvestati andmefaili (TPS formaat) programmiga tpsDig 2.05 (Rohlf, 2006). Libisevad e. pool-võrdluspunktid (*sliders, semilandmarks*) defineeriti programmiga tpsUtil 1.34 (Rohlf, 2005b). Digiteeritud



võrdluspunktide andmefaili analüüsi programmi tpsRelw 1.42 (Rohlf, 2005a); selle programmi abil leitud peakomponentide (*relative warp scores*) väärtused iga objekti kohta viidi üle programmi Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.), kus toimus edasine analüüs ja hajuvusdiagrammide kuvamine. Nendel juhtudel kui analüüsi olid võetud mõlemad pooled peenisvalvist ja munetist, arvutati lisaks iga isendi kohta peakomponentide väärtuste keskmised.



Joonis 1. Peenisvalvide mõõdetavad kaugused ning peenisvalvide ja munetite analüüsitavad võrdluspunktid. A – peenisvalvide lineaarsed mõõdetavad kaugused. B – Peenisvalvide võrdluspunktid (valged ringid), pool-võrdluspunktid (avatud ringid) ja võrdluspunktid, mida deformatsioonide tõttu analüüsi ei võetud (nummerdamata valged ristid). Osadest analüüsides jäeti välja võrdluspunkti nr. 8. C – Muneti apikaalse osa võrdluspunktid (valged ringid).

Vastsete kutiikula struktuuride (harjased, näärmekoonused) uurimiseks lõigati etanoolilahuses fikseeritud isendilt ära peakapsel, tehti žileti või peene skalpelliga sisselõige piki ventraalset külge jäsemete vahelt ning hoiti 10–12 tundi 10–15% KOH või NaOH lahuses. Pärast seda eemaldati sisikond ja kutiikula, viimast loputati korduvalt destilleeritud veega. Eelnevalt 96% etanoolilahuses veetustatud vastse kutiikula sirutati alusklaasil laiali ja püsipreparaatide tegemiseks sulundati objekt kanada palsamisse või euparaali. Mõningatel juhtudel tehti kerekutiikula preparaadid ka vastsekestadest, mis sirutati välja binokulaari all. Suised eemaldati vastsekestadelt samuti binokulaari all kasutades entomoloogilist nõela ja skalpelli ning neist valmistati püsipreparaadid. Preparaate vaadeldi 100 ja 200-kordse suurendusega.

Vastsete kehapikkused ja peakapsli laiused mõõdeti binokulaaridega MBS-2, mille ühes okulaaris oli mõõteskaala. Harjased ja näärmekoonused (*glandubae*) loendati 1.–8. tagakehasegmendi põikvoltidel ning 1. ja 2. postspirakulaaralal. Morfoloogiline terminoloogia on Wong (1963) ja Viitasaari (2002) järgi, vastav eestikeelne terminoloogia Prous (2005) järgi. Terminid pea laikude ja triipude kohta on peamiselt Lorenz & Kraus (1957) järgi. Tabelis 1 on toodud vaadeldud liigid ja isendite arv.

Tabel 1. Ülevaade vastsetest, kelle kutiikulal loendati harjaste ja näärmekoonuste arv.

Liik	Isendite arv	Mitme emase järglased?	Kasvatusviis
<i>E. alector</i>	2+2*	2	<i>Ex ovo</i>
	1	1	<i>Ex larva</i>
<i>E. longicornis</i>	4+3*	4	<i>Ex ovo</i>
<i>E. tridens</i>	3+1*	2	<i>Ex ovo</i>
<i>E. basalis</i>	7	2	<i>Ex ovo</i>
	1*	1	<i>Ex larva</i>

\* - preparaadid tehti vastsekestade põhjal.

Pildid elusatest valmikutest ja vastsetest tehti digitaalsete fotokaameratega Canon PowerShot G6 (lisa 1, joon.16; 17A, C–K; 18E–N) ja HP PhotoSmart 735 (lisa 1, joon. 17B). Joonisel 19Joonis kujutatud fotod on tehtud binokulaari Olympus SZX12 külge ühendatud digitaalse kaameraga SensiCam; sama kaameraga, mis oli ühendatud mikroskoobi Zeiss Axioskop külge, tehti ka mikrofotod mikroskoobislaididest (lisa 1, joon. 18A–D; joon. 20–26). Ühest objektist mikroskoobislaidil tehti olenevalt vajadusest 3–15 erinevatel tasapindadel fokuseeritud mikrofotot (lisa 1, joon. 18A–D; joon. 20–26), mis liideti üheks Alan Hadley koostatud vabavaralise programmiga CombineZ 4.6 (uuem versioon CombineZM on kättesaadaval aadressil <http://www.hadleyweb.pwp.blueyonder.co.uk/index.htm>). Joonistel 20–23, 25G ja 26D–E (lisa 1) olevad pildid on kokku liidetud 2–4 erinevast osaliselt kattuvast mikrofotost, kasutades programmis ImageJ 1.36b rakendatavat lisavidinat (*plugin*) MosaicJ (Thévenaz *et al.*, 2006; <http://bigwww.epfl.ch/thevenaz/mosaicj/>).

*Molekulaarsed analüüsid ja meetodid.* Fülogeneesi rekonstrueerimiseks valiti mitokondri genoomist tsütokroomoksüdaasi I ja II alaühiku (COI ja COII) ning ribosoomi väikse alaühiku RNA (12S rRNA) geenifragmendid. DNA eraldati etanoolis fikseeritud II–IV kasvujärgu vastsetest ja etanoolis fikseeritud või õhu käes kuivatatud valmikutest. Vastsetelt

eemaldati peakapsel ja DNA eraldamiseks kasutati ülejäänud osa isendist. Valmikute puhul kasutati DNA eraldamiseks rindmikulihasid. Igast käesolevas töös käsitletud leidnud *Empria longicornis* rühma liigist sekveneeriti vähemalt ühe isendi DNA, kelle liigilises kuuluvuses kahtlust polnud (tabel 2). Lisaks valiti sekveneerimiseks kaks nõelastatud isendit (isased), kelle liigini määramisel tekkis kahtlusi (tabel 2). Selline vähene isendite arv igast *E. longicornis* rühma liigist (tabel 2) ei lubanud kindlusega hinnata liikide mono- või mittemonofüleetilisust, kuid eeldades, et tegemist on erinevate liikidega, oli võimalik saada ettekujutus liikide vahelistest fülogeneetilistest suhetest. Välisrühmadeks valiti liigid *E. candidata*, *E. pumila* ja *E. pallimacula*, kes otsustades valmikute ja vastsete morfoloogia põhjal võiksid olla evolutsiooniliselt erineva kaugusega *E. longicornis* liigirühmale.

Tabel 2. Molekulaarsetesse analüüsidesse võetud materjalid.

Liik	Isendite arv	Koguja	DNA fragmendid
<i>E. alector</i>	1 ♀	Mikk Heidemaa	COI, COII, 12S rRNA
<i>E. longicornis</i>	1 ♂ (vastne)	Autor	COI, COII, 12S rRNA
<i>E. tridens</i>	1 (vastne)	Autor	COI, COII, 12S rRNA
<i>E. tridens?</i>	2 ♂	Autor	COI, COII, 12S rRNA
<i>E. basalis</i>	2 (vastsed)	Autor	COI, COII, 12S rRNA
<i>E. pallimacula</i>	1 (vastne)	Autor	COI, COII, 12S rRNA
<i>E. pumila</i>	1 ♀	Mikk Heidemaa	COI, COII, 12S rRNA
<i>E. candidata</i>	1 (vastne)	Autor	COII, 12S rRNA

DNA eraldamiseks ja puhastamiseks kasutati High Pure PCR Template Preparation Kit'i (*Roche*), järgides tootjapoolset protokollit ning eraldatud DNA säilitati -20°C juures hilisemate PCR reaktsioonide tarvis. Mitokondri COI geenifragmendi amplifitseerimiseks kasutati praimereid C1-J-1751 (5' GGA TCA CCT GAT ATA GCA TTC CC 3') ja C1-N-2191 (5' CCA GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC 3'); COII geenifragmendi jaoks olid praimerid TL2-J-3037 (5' ATG GCA GAA AAA TGC AAT GG 3') ja C2-N-3661 (5' CCA CAA ATT TCT GAA CAT TGA CC 3'), millest oli välja jäetud viimane nukleotiid 3' otsast (Simon *et al.*, 1994). 12S rRNA fragmendi amplifitseerimiseks disainiti praimerid Kuld2F (5' TAC TWT GTT ACG ACT TAT YCC 3') ja Kuld2R (5' AAA CTA GGA TTA GAT ACC CTA 3'). Disainitud praimer Kuld2R on 3' otsast 4 nukleotiidi võrra lühem, kuid muus osas identne praimeriga 12Sa1 (SR-N-14588; Simon *et al.*, 1994).

PCR reaktsioonide segud olid kogusega 20 µl, mis sisaldas 4...100 ng genoomset DNA-d, 5 pM kumbagi praimerit, 0,2 mM dNTP segu, 1 ühik Advantage 2 PCR puhvrit ja 0,5 ühikut Advantage 2 Polymerase segu. PCR reaktsioonid viidi läbi termotsükleritega Gene Amp PCR System 2700 (*Applied Biosystems*) ning TProfessional Thermocycler (*Biometra*); tsükli parameetrid olid 1 min denatureerimist 95°C juures, millele järgnes 37-42 tsükli: 20 sek 95°C juures, 30 sek 45°C juures ning 50 sek 68°C juures. PCR produkt puhastati kreveti aluselise fosfataasi ja eksonukleas I abil. 1 ühik mõlemat ensüümi lisati 10 µl PCR reaktsioonipuhvrile ja hoiti 27 min 37°C juures, millele järgnes ensüümide inaktiveerimine 15 min jooksul 80°C juures. Puhastatud PCR produkti kasutati otse sekveneerimiseks või hoiti temperatuuril -20°C kuni sekveneerimiseni. DNA sekveneerimiseks kasutati DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing kit'i (*Amersham Biosciences*). 33 tsükli 10 µl reaktsioonilahustes viidi läbi termotsükleritega Gene Amp PCR System 2700 (*Applied Biosystems*) ning TProfessional Thermocycler (*Biometra*). Et järjestused oleksid üheselt mõistetavad, sekveneeriti DNA mõlemad ahelad kasutades samasid primereid mis PCR reaktsioonides. Järjestused tehti kindlaks ABI PRISM 377 automeeritud sekvenaatoril (*Applied Biosystems*). Mõlema DNA ahela põhjal koostati iga järjestuse jaoks konsensusjärjestus.

Sekveneeritud järjestusi toimetati programmis Bioedit 7.0.4.1 (Hall, 1999). Maksimaalse parsimoonia (MP) ja *neighbour-joining* (NJ) analüüsid viidi läbi programmiga Mega 3.1 (Kumar *et al.*, 2004). Programmidega Phylip 3.65 (Felsenstein, 2004) ja TreePuzzle 5.2 (Schmidt *et al.*, 2002) rekonstrueeriti fülogenees suurima tõepära (ML) meetodil. Transitsioonide ja transversioonide suhe, leiti programmi TreePuzzle 5.2 abil. Valke kodeerivate geenide (COI ja COII) fragmente analüüsiti nukleotiidsel tasemel. Et kindlaks teha, millist mõju võiks avaldada kolmandate koodoni positsioonide välja jätmise fülogeneetilistest analüüsides, tuli need kõigepealt sekveneeritud valgugeeni fragmentidel kindlaks teha. Selleks laeti Geenipangast (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) alla kahe lehevaablase tsütokroomoksüdaasi valgujärjestused (COI puhul järjestus ABK32828, COII puhul ABO32315). Geneetilise koodi tabelina kasutati selgrootu mitokondri genoomi kooditabelit (*the invertebrate mitochondrial code*).

## Tulemused

Kõiki nelja Eestis esinevat *Empria longicornis* liigirühma liiki õnnestus kasvatada ja kõikide liikide jaoks õnnestus kasvatada munast ka isaseid. Kõik vastsest kasvatatud isendid olid emased ning ühel juhul õnnestus vastsest kasvatatud emase munadest järgmises põlvkonnas saada ka isaseid. Liigi *Empria basalis* vastsed olid varem kirjeldamata ja peremeestaim teadmata.

## *Empria longicornis* liigirühma vastsete morfoloogia ja bioloogia

### Üldiseloomustus

Munad munetakse peremeestaima mittepuitunud tüve- või lehevarte pindmistes kudedesse (lisa 1, joon. 16A), üksikutel juhtudel ka lehelaba roodude kõrvale. Munad paigutatakse üksikult (lisa 1, joon. 16B, C, E), harvem kobarana (lisa 1, joon. 16D) ja nende arv jääb tavaliselt 10...30 vahele. Munad on elliptilised, algul üsna lamedad ja substraadis vähemärgatavad. Hiljem need paisuvad ja läbi munakesta on näha tumedad lihtsilmad ja pruunikad ülalõuad ning aimatavad on ka pea ja kere piirjooned. Munade inkubatsiooniaeg on olenevalt temperatuurist keskmiselt alates 7 päevast (23–25°C juures) kuni 15 päevani (15°C või madalama temperatuuri juures). Kasvujärgude kestus jääb olenevalt temperatuurist 2–6 päeva piiresse. Arengu kestus I kasvujärgust eelnukuni olenevalt temperatuurist ja kasvujärgude arvust on 16–30 päeva, millest viimane kasvujärk võib kesta 3–12 päeva. Viimase kasvujärgu vältel vastsed algul toituvad, kuid mõne aja pärast nende värvus muutub (kere dorsaalosa muutub heledamaks ja kollakamaks; lisa 1, joon. 16F), nad valmistuvad minema eelnuku staadiumi. Eelnukud puurivad end vaarika varre säsisse (lisa 1, joon. 16H), kus nad järgmisel kevadel ka nukkuvad. Toidutaimed kuuluvad roosõieliste (Rosaceae) hulka: angervaks (*Filipendula ulmaria*), vaarikas (*Rubus idaeus*) ja ojamõõl (*Geum rivale*) ning tõenäoliselt ka mõned teised liigid taimeperekondadest murakas (*Rubus*) ja mõõl (*Geum*).

*Kere*. Viimase kasvujärgu isendite pikkus on 12–18 mm. Ventro-lateraalselt (kuni hingeavade ülaosasid läbiva pikiteljeni) helehall, dorso-lateraalselt tumedam. Viimase kasvujärgu isendid tumeda hingeavade kohal asuva laia supraspirakulaarvöödi ja kitsa joonega dorsaalosa keskel. Supraspirakulaarvööt võib olla katkendlik. Pärakilbil tume laik olemas või puudub. Näarmekoonused ogalise skulptuuriga või siledad. Harjaste arv tagakehasegmentidel 1–8: 1. põikvoldil keskmiselt 5–6 (4–8), 2. põikvoldil keskmiselt 9–10 (7–16), 4. põikvoldil keskmiselt 9 (7–14), 1. poststigmaalal keskmiselt 4 (2–8) ja 2. poststigmaalal keskmiselt 6

(2–10). Näärmekoonuste arv tagakehasegmentidel 1–8: 2. põikvoldil keskmiselt 2–3 (1–5), 4. põikvoldil keskmiselt 4 (2–5), 1. poststigmaalalal 2 ja 2. poststigmaalalal keskmiselt 2 (1–4).

*Pea.* Viimase kasvujärgu (IV–VI) isendite peakapsli laius 1,20–1,85 mm. I kasvujärgu pea ühtlaselt pruun kuni tumepruun. II kasvujärgu pea tavaliselt ühtlaselt kollakaspruun kuni tumepruun, mõnikord ka tumedate laikudega. III kasvujärgu pea kollakaspruun kuni tumepruun ja tavaliselt tumedate parietaallaikude, kuklalaigu ja tumeda vöödiga silmade vahel. IV, V ja VI kasvujärgu pea kollakaspruun kuni pruun ja olenevalt liigist ja kasvujärgust tumedate laikudega või ilma. Kui viimase kasvujärgu isenditel on olemas tumedad laigud, siis on need selgemini väljendunud kui varasematel kasvujärkudel (tume vööt silmade vahel puudub alati).

*Eelnukk.* Kere läikivhall või läikiv pruunikashall. Pea ülaosa tumedam kui kere, alaosa (laup ja silmadest allapoole jääv ala) heledamalt värvunud. Võrreldes toituvate vastsejärgudega on kere kutiikula pind muutunud siledaks ja kadunud on näärmekoonused, kuid harjaste arv on jäänud samaks.

### ***Empria alector* Benson, 1938**

Pildid: lisa 1, joon. 17A, B. Vastsete kirjeldus 3 emase järglaste põhjal.

Peremeestaim on angervaks (*Filipendula ulmaria*); selle puudumisel võivad ajutiselt toituda ka metsmaasikast (*Fragaria vesca*) ja vaarikast (*Rubus idaeus*). Kasvujärke 4–6.

*Kere.* I kasvujärk suitsjas. II kuni IV (V) kasvujärk rohekashall. Viimane kasvujärk: rohekashall kuni tume-rohekashall, tumeda supraspirakulaarvöödiga ja kitsa joonega dorsaalosa keskel; tume laik pärikilbil olemas, subspirakulaarsed laigud olemas või puuduvad. Näärmekoonused ogalise skulpuuriga (lisa 1, joon. 18A).

*Pea.* I kuni II (III) kasvujärgu pea tumepruun. Alates III (IV) kasvujärgust pea pruun hästi väljendunud parietaallaikude ja kuklalaiguga (laikude suurus varieerub). III kuni V kasvujärgu isenditel võib silmade vahel esineda tume vööt. Viimane kasvujärk: kollakaspruun kuni pruun hästi väljendunud peakapsli tagaservani ulatuvate parietaallaikude ja kuklalaiguga (laikude suurus varieerub). Alalõuakobija 3. lüli apikaalosas 4–5 lühikest harjast.

*Eelnukk.* Pea läikiv tume-hallikaspruun, laubakilbini ulatuva kiirmikutriibuga; näo alaosa heledam. Kere läikiv pruunikashall, tumedate pikivöötidega hingeavade kohal (supraspirakulaarvööt) ja dorsaalosa keskel (lisa 1, joon. 16G).

### ***Empria longicornis* (Thomson, 1871)**

Pildid: lisa 1, joon. 17C–E. Vastsete kirjeldus 5 emase järglaste põhjal.

Peremeestaim on vaarikas (*Rubus idaeus*), tõenäoliselt ka mõned teised liigid perekonnast murakas (*Rubus*). Toidutaime puudumisel võivad ajutiselt toituda ka metsmaasikast (*Fragaria vesca*) ja angervaksast (*Filipendula ulmaria*). Kasvujärke 5–6.

*Kere.* I kasvujärk suitsjas. II kuni IV (V) kasvujärk rohekashall. Viimane kasvujärk: rohekashall kuni rohekas-tumehall, tumeda supraspirakulaarvöödiga (katkendlik või pidev) ja kitsa joonega dorsaalosa keskel; tume laik päraakilbil selgelt olemas või nõrgalt väljendunud, subspirakulaarsed laigud olemas või puuduvad. Näärmekoonused ogalise skulptuuriga (lisa 1, joon. 18C).

*Pea.* I kasvujärgu pea tumepruun. II kasvujärgu pea pruun või tumepruun. Alates III kasvujärgust kollakaspruun kuni pruun. III ja IV kasvujärgu vastsetel võivad esineda kuklalaik ja parietaallaigud. Viimane kasvujärk: kollakaspruun kuni helepruun, nõrgalt väljendunud kuklalaiguga või ilma. Alalõuakobija 3. lüli apikaalosas 4–5 lühikest harjast.

*Eelnukk.* Pea läikiv tume-hallikaspruun, laubakilbini ulatuva kiirmikutriibuga; näo alaosa heledam. Kere läikiv pruunikashall, tumedate pikivöötidega hingeavade kohal (supraspirakulaarvööt) ja dorsaalosa keskel (lisa 1, joon. 16J).

### ***Empria tridens* (Konow, 1896)**

Pildid: lisa 1, joon. 17F–H. Vastsete kirjeldus 3 emase järglaste põhjal.

Peremeestaim on vaarikas (*Rubus idaeus*), tõenäoliselt ka mõned teised liigid perekonnast murakas (*Rubus*). Toidutaime puudumisel võivad ajutiselt toituda ka metsmaasikast (*Fragaria vesca*). Kasvujärke 4–5.

*Kere.* I kasvujärk suitsjas. II kuni IV kasvujärk rohekashall. Viimane kasvujärk: hele rohekashall kuni tume rohekashall, tumeda supraspirakulaarvöödiga (katkendlik või pidev) ja kitsa joonega dorsaalosa keskel; tume laik päraakilbil puudub või olemas, subspirakulaarsed laigud puuduvad. Näärmekoonused siledad, selge skulptuurita (lisa 1, joon. 18D).

*Pea.* I kasvujärgu pea tumepruun. II kasvujärgu pea pruun või tumepruun. Alates III kasvujärgust kollakaspruun kuni pruun. III kasvujärk silmade vahel oleva tumeda vöödiga. Alates IV kasvujärgust selgelt või nõrgalt väljendunud kukla- ja parietaallaikudega. Viimane kasvujärk: kollakaspruun kuni pruun, selgelt või nõrgalt väljendunud kuklalaiguga; parietaallaigud olemas või puuduvad. Alalõuakobija 3. lüli apikaalosas 4–5 lühikest harjast.

*Eelnukk.* Pea läikiv tumehall, laubakilbini ulatava kiirmikutriibuga; näo alaosa heledam. Kere läikivhall, tumedate pikivöötidega hingeavade kohal (supraspirakulaarvööt) ja dorsaalosa keskel (lisa 1, joon. 16K).

### ***Empria basalis* Lindqvist, 1968**

Pildid: lisa 1, joon. 17I–K. Vastsete kirjeldus 5 emase järglaste põhjal.

Peremeestaim on ojamõõl (*Geum rivale*), tõenäoliselt ka maamõõl (*G. urbanum*). Toidutaimede puudumisel võivad ajutiselt toituda ka metsmaasikast (*Fragaria vesca*) ja vaarikast (*Rubus idaeus*). Kasvujärke 4–5.

*Kere.* I kasvujärk suitsjas. II kuni IV kasvujärk hele-rohekashall. Viimane kasvujärk: hele-rohekashall kuni rohekashall, tumeda supraspirakulaarvöödiga (katkendlik või pidev) ja kitsa joonega dorsaalosa keskel; tume laik päraakilbil ja subspirakulaarsed laigud puuduvad. Näärmekoonused siledad, selge skulptuurita (lisa 1, joon. 18B).

*Pea.* I kasvujärgu pea pruun kuni tumepruun. II–III kasvujärgu pea kollakaspruun kuni pruun tumeda vöödiga silmade vahel või ilma. Alates II–III kasvujärgust pea lisaks parietaallaikude ja kuklalaiguga, mis hilisematel kasvujärkudel on selgemini väljendunud. Viimane kasvujärk: kollakaspruun kuni helepruun väikse kuklalaiguga; parietaallaigud olemas või puuduvad, kui olemas, siis võivad ulatuda peakapsli tagaservani, olemas või puuduvad. Alalõuakobija 3. lüli apikaalosas 5–6 lühikest harjast.

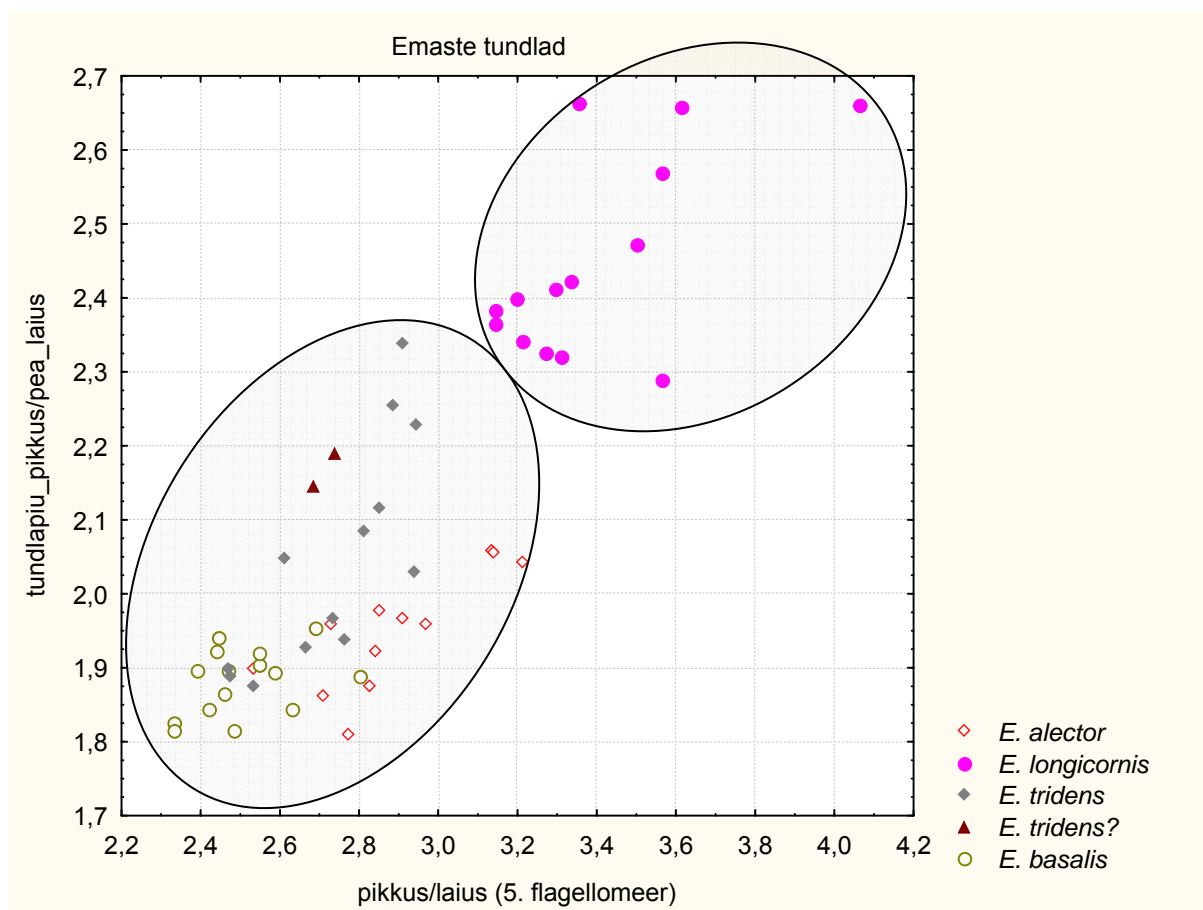


*Eelnukk.* Pea läikivhall kuni läikiv tumehall, laubakilbini ulatuva kiirmikutriibuga; näo alaosa heledam. Kere läikivhall, tumedate pikivöötidega hingeavade kohal (supraspirakulaarvööt) ja dorsaalosa keskel (lisa 1, joon. 16H–I).

## *Empria longicornis* liigirühma valmikud

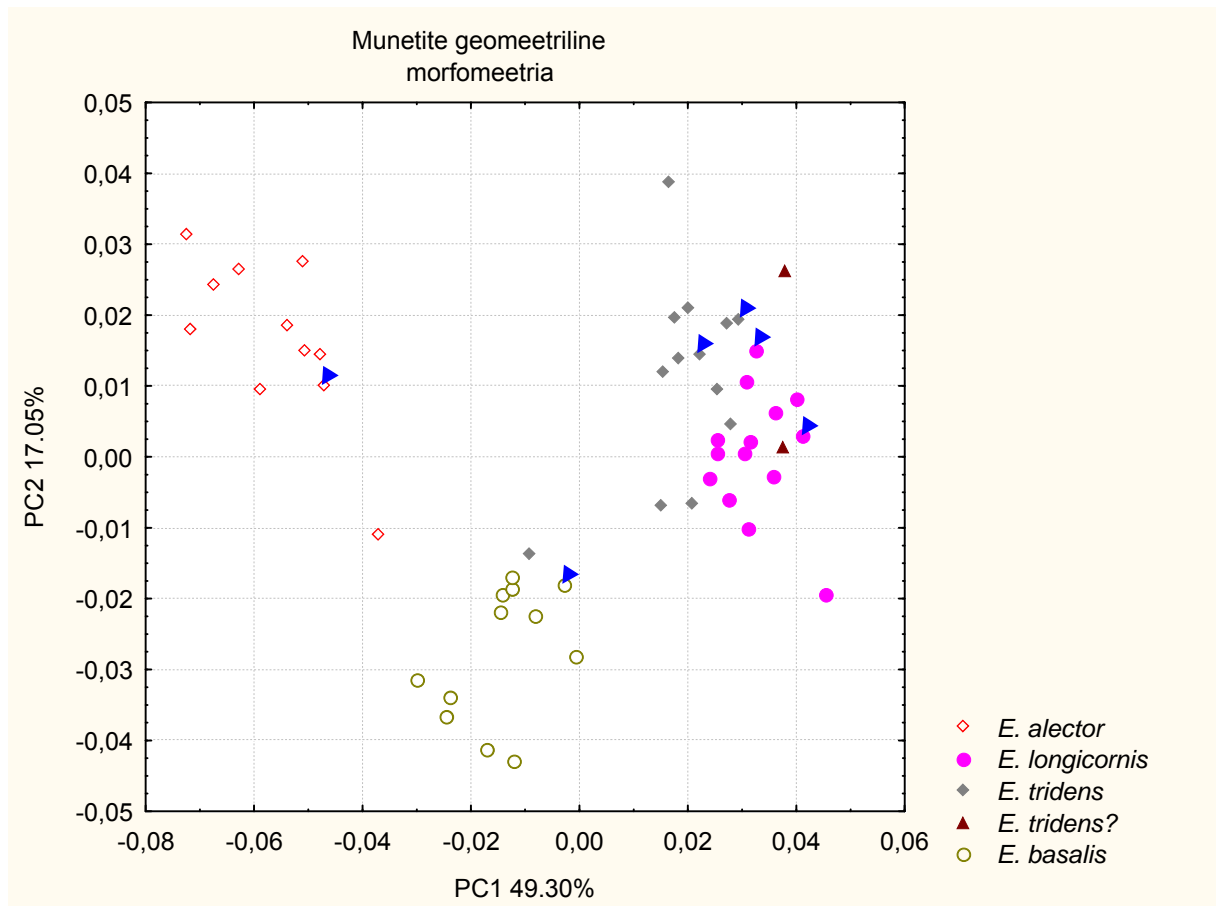
### Emaste morfomeetria

Mõõtmistulemused on toodud tabelis 9 (lisa 4). Emased määrati enne analüüse munetihammaste struktuuri järgi. Tundlate põhjal saab liigi *E. longicornis* emased eristada teistest liigirühma emastest (joon. 2). Suhteliselt lühikeste tundlatega isendite seast (liigid *E. basalis*, *E. tridens* ja *E. alector*) saab tavaliselt neljanda flagellomeeri põhjal veel eristada kaks liiki: *E. basalis* emastel on 4. flagellomeeri pikkuse-laiuse suhe alla 2,8 aga liigil *E. alector* tavaliselt üle 2,8.



Joonis 2. Viienda flagellomeeri pikkuse-laiuse suhe ja tundlate suhteline pikkus. Näha on, et emasisendid võib jagada kahte rühma: ühed on suhteliselt lühikeste (*E. basalis*, *E. tridens* ja *E. alector*) ja teised suhteliselt pikkade tundlatega (*E. longicornis*).

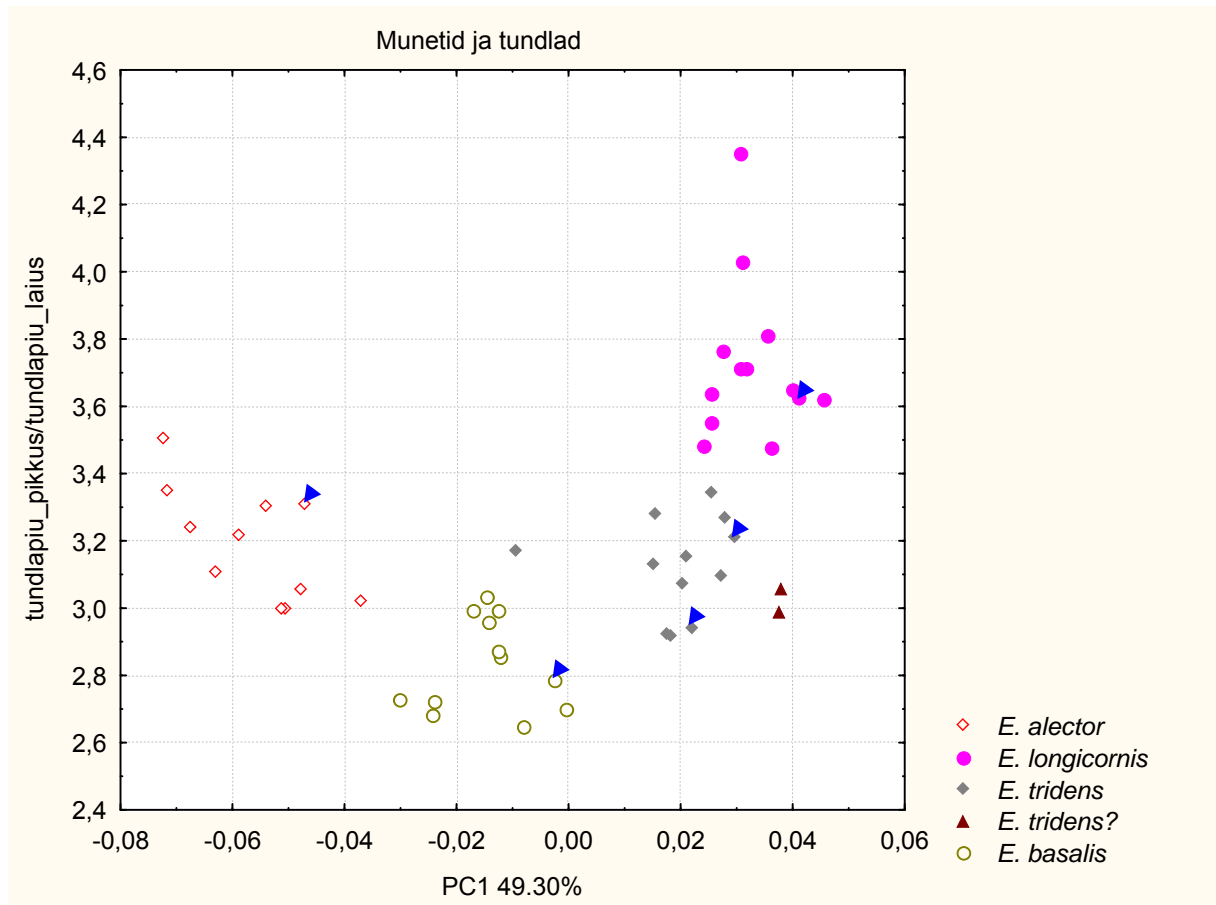
Emaseid saab tavaliselt hõlpsasti eristada munetihammaste struktuuri põhjal (lisa 1, joon. 21–23), ainult liikide *E. tridens* ja *E. longicornis* eristamine sellisel viisil võib mõnikord keeruline olla. Nii nagu munetihammaste struktuuri põhjal, saab ka geomeetrilise morfomeetria (25 võrdluspunkti; joon. 1C) analüüside tulemusel defineerida kolm klastrit: esimene vastab liigile *E. alector*, teine liigile *E. basalis* ja kolmas liikidele *E. tridens* ja *E. longicornis* (joon. 3). Liigi *E. longicornis* aga saab, nagu juba mainitud, liigist *E. tridens* eristada tundlate põhjal (joon. 2).



Joonis 3. Munetite geomeetriline morfomeetria. Toodud on geomeetrilise morfomeetria analüüsi esimene ja teine peakomponent. Noolteotstega on tähistatud emased, kelle munadest õnnestus kasvatada isaseid.

Joonisel 4 kujutatud hajuvusdiagrammil on geomeetriliste morfomeetria analüüside tulemused kombineeritud tundlate tunnustega, mille tulemusel eristuvad kõik neli liiki selgelt. Joonisel 4 on ühe komponendina kasutatud tundlapiu pikkuse ja flagellomeeride summaarse laiuse suhet, kuid liikide *E. tridens* ja *E. longicornis* eristamiseks piisab ka 5. (lisa 3, joon. 30) või 6. (pole näidatud) flagellomeeri pikkuse-laiuse suhtest (või ka lihtsalt 6. flagellomeeri pikkusest). Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhte järgi liigid *E. tridens* ja *E. longicornis*

väga selgelt ei eristu (lisa 3, joon. 29). Liike *E. basalis* ja *E. tridens* saab eristada basaalseste munetihammaste põhjal, kuid apikaalsed ja keskmised munetihambad on neil liikidel küllalt sarnased (lisa 1, joon. 21B, D–E; 22B, D–E; 23B, F). Geomeetrilise morfomeetria analüüsid, kus kasutati just muneti apikaalset osa (joon. 1C), eristuvad liigid *E. basalis* ja *E. tridens* selgelt (joon. 3).



Joonis 4. Munetite ja tundlate morfomeetria. Toodud on geomeetrilise morfomeetria analüüsi esimene peakomponent ja tundlapiu pikkus jagatud flagellomeeride summaarse laieusega. Noolteotstega on tähistatud emased, kelle munadest õnnestus kasvatada isaseid.

Siiski vajavad mõned isendid kommenteerimist. Joonistel 2–4 (ja lisa 3, joon. 29–30) on kaks munetite põhjal ebakindlalt määratud emast märgitud küsimärgiga (kaks *E. tridens?* isendit). Geomeetrilise morfomeetria esimese peakomponendi põhjal on nende isendite puhul tegemist pigem liigiga *E. longicornis* (joon. 3), kuid tundlate põhjal võiks neid isendeid siiski käsitleda liigi *E. tridens* esindajatena (joon. 2, 4; lisa 3, joon. 29–30). Üks isend, kes munetihammaste struktuuri põhjal kuulub liiki *E. tridens* (lisa 1, joon. 23F), on geomeetrilise morfomeetria tulemuste (joon. 3) põhjal pigem *E. basalis*. Tasub veel märkida ühte isendit, kelle munetihambad on selgelt omased liigile *E. alector* (joon. 23A), kuid samas muneti üldise kuju

poolest erineb teistest selle liigi esindajatest (joon. 3). Kuna nendest mainitud erandlikest emastest pole vastseid (seega ka mitte isaseid) kasvatatud, siis ei saa öelda, kas nende munetite eripärasus on oluline või mitte. Siiski võib kaks munetite põhjal ebakindlalt määratud *E. tridens* isendit tundlate alusel pigem sellesse liiki paigutada (joon. 4; lisa 3, joon. 29–30), kuna erinevused liikide *E. longicornis* ja *E. tridens* munetite kujus pole suured (joon. 3). Teised kaks erandlikku isendit – üks *E. alector* ja üks *E. tridens* (joon. 3) – võib munetihammaste diskreetsete tunnuste põhjal (joon. 23A, F) pidada vastavate liikide esindajateks.

Geomeetrilise morfomeetria analüüsi peakomponentide ning mõõdetud tunnuste (tabelis 9) ja nende suhete põhjal viidi läbi ka *forward stepwise* meetodit kasutades diskriminantanalüüs. *Forward stepwise* meetodil leiti olulisimad tunnused, mille järgi liike eristada. Enne analüüsi jäeti neljal isendil rühma kuuluvus määramata (kaks ebakindlalt määratud *E. tridens* isendit, üks *E. alector* ja üks *E. tridens* isend), et teada saada millisesse rühma nad paigutuvad kõige tõenäolisemalt vastavalt ülejäänud isendite põhjal leitud diskriminantfunktsioonile.

Rühmad eristumine diskriminantanalüüsis oli väga oluline: minimaalne F-väärtus liikide *E. longicornis* ja *E. tridens* eristamisel 12,611 ning maksimaalne *E. longicornis* ja *E. basalis* eristamisel 104,063; p-väärtus kõikidel juhtudel alla 0,001.

Tabelis 3 on toodud *forward stepwise* meetodil välja valitud olulisimad tunnused, mis võimaldavad liike eristada. Tabelis 4 on toodud usaldusväärselt määratud emaste klassifitseerumine diskriminantanalüüsi põhjal ning tabelis 5 enne analüüsi määramata jäetud emaste kõige tõenäolisem rühma kuuluvus vastavalt usaldusväärselt määratud isendite põhjal leitud diskriminantfunktsioonile.

Tabel 3. Diskriminantanalüüsi *forward-stepwise* meetodil valitud olulisimad klassifikaatorid ja neid iseloomustavad statistikud.

Klassifitseeriv tunnus	F-entr/rem	p-väärtus	Wilks' Lambda	Osaline Lambda	p-väärtus	Tolerants
PC1 49.30%	299.4228	0.0000	0.0059	0.1457	0.0000	0.7851
PC2 17.05%	55.7984	0.0000	0.0033	0.2643	0.0000	0.6979
4. flagellomeeri Pikkus	34.2361	0.0000	0.0009	0.9519	0.6704	0.1604
tundlapiu_pikkus/ pea_laius	2.8235	0.0520	0.0011	0.7541	0.0309	0.0796
POL/pea_laius	2.3138	0.0923	0.0011	0.8197	0.0997	0.6782
PC3 10.40%	1.6530	0.1949	0.0010	0.8650	0.2066	0.6275
flagellomeeride_laius/ pea_laius	1.0703	0.3746	0.0010	0.8665	0.2113	0.1078

Tabel 3 (järg)

Klassifitseeriv tunnus	F-entr/rem	p-väärtus	Wilks' Lambda	Osaline Lambda	p-väärtus	Tolerants
<b>6. flagellomeeri Pikkus</b>	1.1006	0.3627	0.0010	0.8425	0.1450	0.0774
<b>pikkus/laius (1. flagellomeer)</b>	1.4302	0.2521	0.0010	0.8256	0.1100	0.1642
<b>pikkus/laius (6. flagellomeer)</b>	1.0564	0.3817	0.0010	0.9073	0.3817	0.0857

Tabel 4. *Empria longicornis* liigirühma emaste (N=44) jaotumine diskriminantanalüüsi põhjal, kasutades tabelis Tabel toodud tunnuseid (ei sisalda isendeid, kes jäeti enne analüüsi klassifitseerimata).

Vaadeldud jaotumine	% õigesti määratud	Ennustatav jaotumine			
		<i>E. alector</i>	<i>E. basalis</i>	<i>E. tridens</i>	<i>E. longicornis</i>
<i>E. alector</i>	100	10	0	0	0
<i>E. basalis</i>	100	0	11	0	0
<i>E. tridens</i>	100	0	0	11	0
<i>E. longicornis</i>	100	0	0	0	12
<b>Kokku</b>	100	10	11	11	12

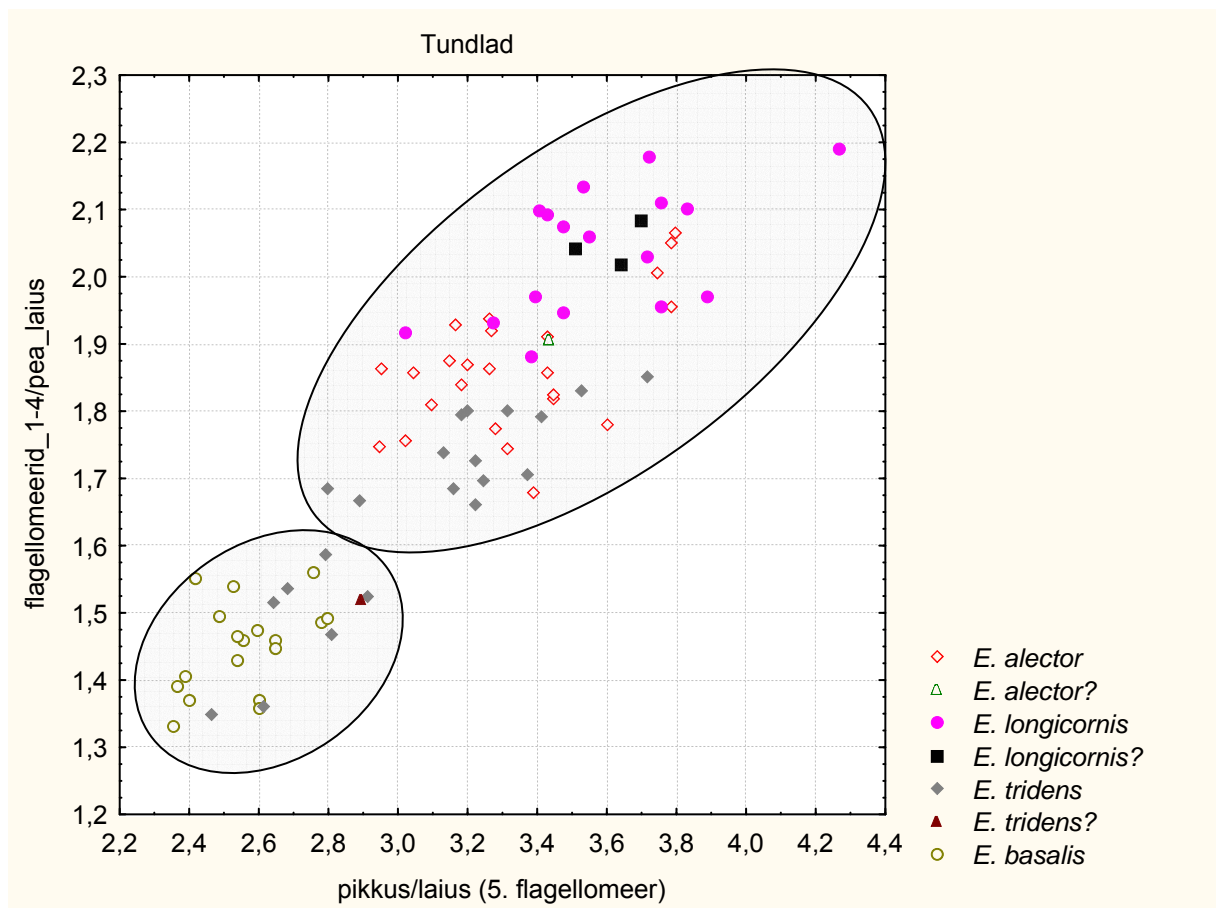
Tabel 5. Klassifitseerimata isendite jaotumine diskriminantfunktsiooni põhjal, mis leiti klassifitseeritud isendite (N=44) analüüsil, ja nende posterioorsed tõenäosused. Klassifitseerimata isendite veerus on antud emaste kõige tõenäolisem määrang munetihammaste struktuuri põhjal (toodud ka viide vastavate munetite joonistele).

Klassifitseerimata isendid	Posterioorsed tõenäosused			
	<i>E. alector</i>	<i>E. basalis</i>	<i>E. tridens</i>	<i>E. longicornis</i>
<i>E. alector</i> (lisa 1, joon. 23A)	<b>1,000000</b>	0,000000	0,000000	0,000000
<i>E. tridens?</i> (lisa 1, joon. 23E)	0,000000	0,000000	<b>0,916455</b>	0,083545
<i>E. tridens?</i> (lisa 1, joon. 23D)	0,000000	0,000000	<b>0,963633</b>	0,036367
<i>E. tridens</i> (lisa 1, joon. 23F)	0,000000	<b>1,000000</b>	0,000000	0,000000

Tabelist 5 on näha, et üks isenditest klassifitseeriti diskriminantanalüüsi tulemusel erinevalt sellest (*E. tridens* -> *E. basalis*), kuidas oli isend määratud munetite visuaalsel vaatlusel. Nagu juba varem mainitud võib seda diskriminantanalüüsil liigiks *E. basalis* klassifitseeritud isendit pidada munetihammaste struktuuri põhjal liigi *E. tridens* esindajaks; kui mainitud isendi rühmaks oli enne diskriminantanalüüsi määratud *E. tridens*, siis analüüsi tulemused määrangut ei muutnud (tulemusi pole näidatud).

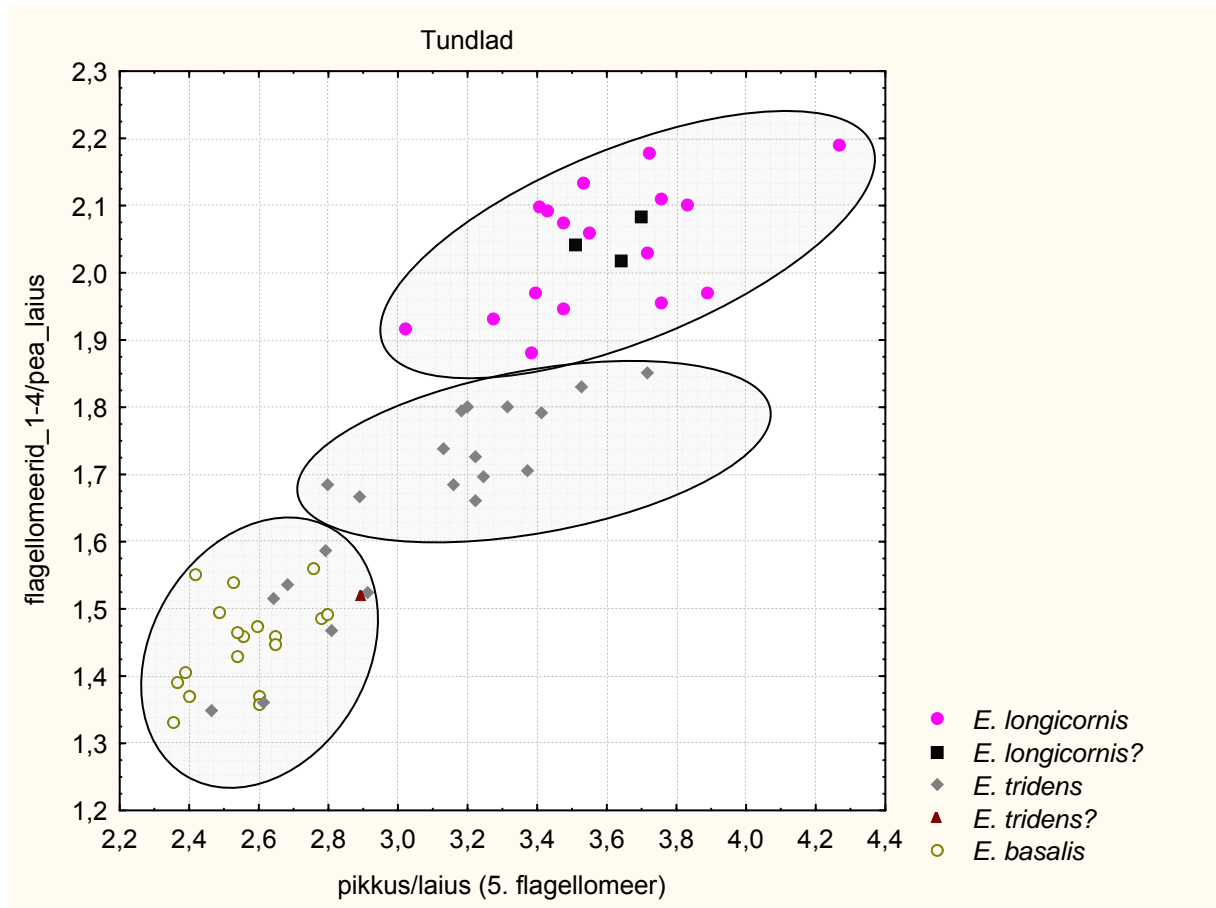
## Isaste morfomeetria

Mõõtmistulemused on toodud tabelis 10 (lisa 4). Isendid määrati algul enne analüüse peenisvalvide visuaalse võrdluse teel, võttes aluseks *ex ovo* kasvatatud isased. Määranguid korrigeeriti analüüside tulemusel *a posteriori*, kuid mõne isendi liigiline kuuluvus jäi siiski veel lahtiseks. Alljärgnevalt on hajuvusdiagrammide kuvamisel kasutatud tunnust „1.-4. flagellomeeri pikkusete summa jagatud peakapsli laiusega” sellepärast, et mitmetel isenditel olid apikaalsed tundlalülid ära murdunud. Tundlate flagellomeeride põhjal saab *E. longicornis* liigirühma jagada kaheks (joon. 5): ühes rühmas on suhteliselt lühikeste tundlate (*E. basalis* ja osaliselt *E. tridens*) ja teises suhteliselt pikkade tundlatega isendid (*E. alector*, *E. longicornis* ja osaliselt *E. tridens*).



Joonis 5. Viienda flagellomeeri pikkuse-laiuse suhe ja tundlate suhteline pikkus. Näha on, et isendid võib jagada kahte rühma: ühes on suhteliselt lühikeste (*E. basalis* ja osaliselt *E. tridens*) ja teises suhteliselt pikkade tundlatega isendid (*E. alector*, *E. longicornis* ja osaliselt *E. tridens*).

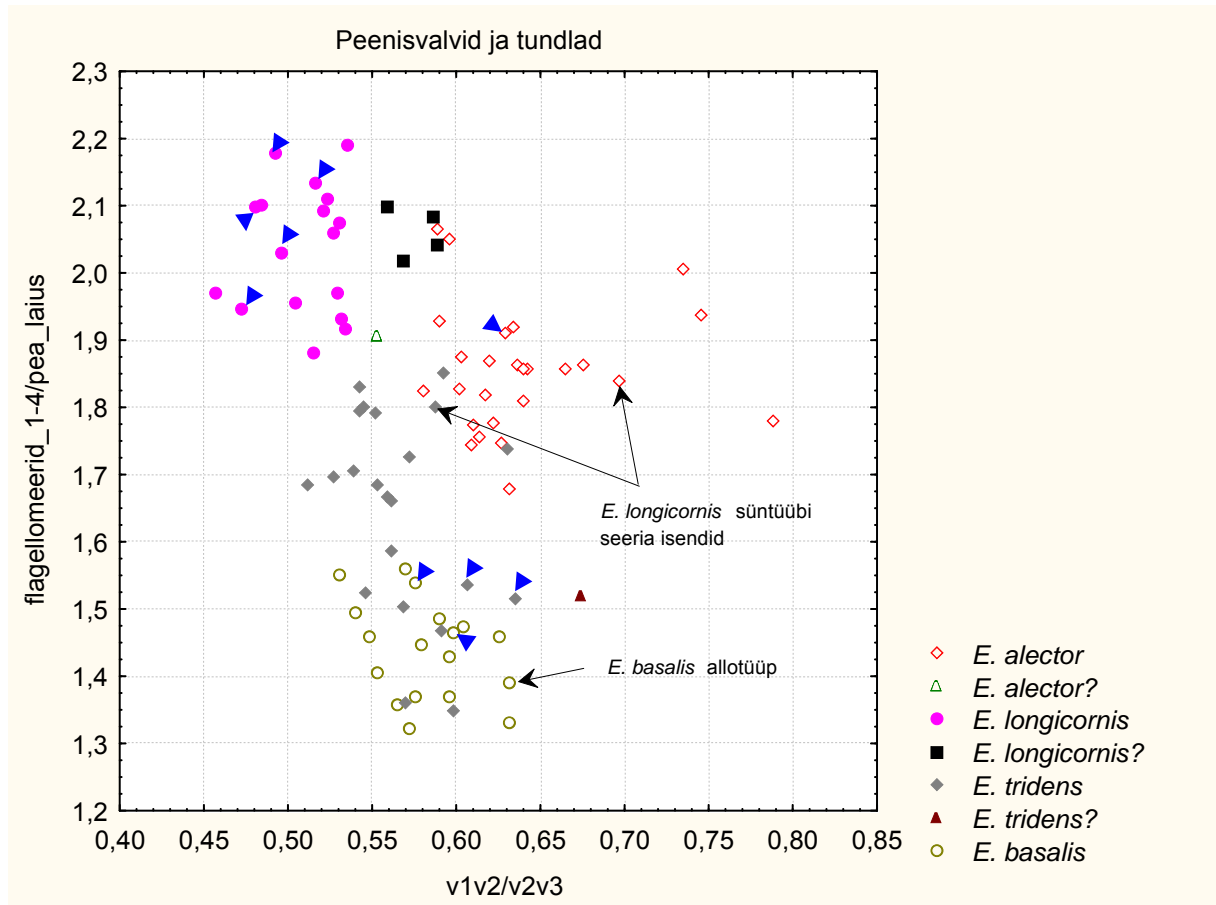
Kui *E. alector* välja jätta, saab tundlate järgi defineerida kolm rühma (joon. 6): ühes rühmas on *E. basalis* ja „lühitundlaline” *E. tridens*, teises rühmas „pikatundlaline” *E. tridens* ja kolmandas *E. longicornis*. Mõlemad *ex ovo* kasvatatud *E. tridens* isendid on suhteliselt lühikeste tundlatega.



Joonis 6. Viienda flagellomeeri pikkuse-laiuse suhe ja tundlate suhteline pikkus (liik *E. alector* on välja jäetud). Näha on, et isendid võib jagada kolme rühma: ühes on *E. basalis* ja „lühitundlaline” *E. tridens*, teises rühmas „pikatundlaline” *E. tridens* ja kolmandas *E. longicornis*.

Liikide kindlamaks tuvastamiseks valmikute põhjal tuleb võrrelda peenisvalvide morfoloogiat. Kuigi tundlate suhtelise pikkuse järgi ei saanud eristada liike *E. alector* ja *E. longicornis*, siis peenisvalvide valvitsepsi ja valvura pikkuste suhte ( $v1v2/v2v3$ ) alusel eristuvad need hästi (välja arvatud üksikud tõenäoliselt liigi *E. longicornis* esindajad) (joon. 7). Veelgi selgemalt eristuvad *E. alector* ja *E. longicornis* valvitsepsi pikkuse ja peakapsli laiuse suhte järgi (lisa 3, joon. 31). Tundlate ja suhte  $v1v2/v2v3$  põhjal ei ole aga võimalik suhteliselt lühikeste tundlatega *E. tridens* isendeid eristada liigist *E. basalis*. Et liike peenisvalvide järgi paremini eristada tehti geomeetrilise morfomeetria analüüsid kasutades

kaheksat või üheksat võrdluspunkti. Paraku ei õnnestunud üksnes peenisvalvide geomeetrisel morfoomeetria tulemusel kõiki liike üksteisest eristada (lisa 3, joon. 32–33). Ühelt poolt on see on tingitud peenisvalvide tegelikust suurest varieeruvusest ja vähesest võrdluspunktide arvust, teiselt poolt aga prepareerimisel tekkinud artefaktidest (deformatsioonidest). Kõige paremini eristusid liigid 9 võrdluspunkti analüüsil esimese ja kolmanda peakomponendi järgi (lisa 3, joon. 32).

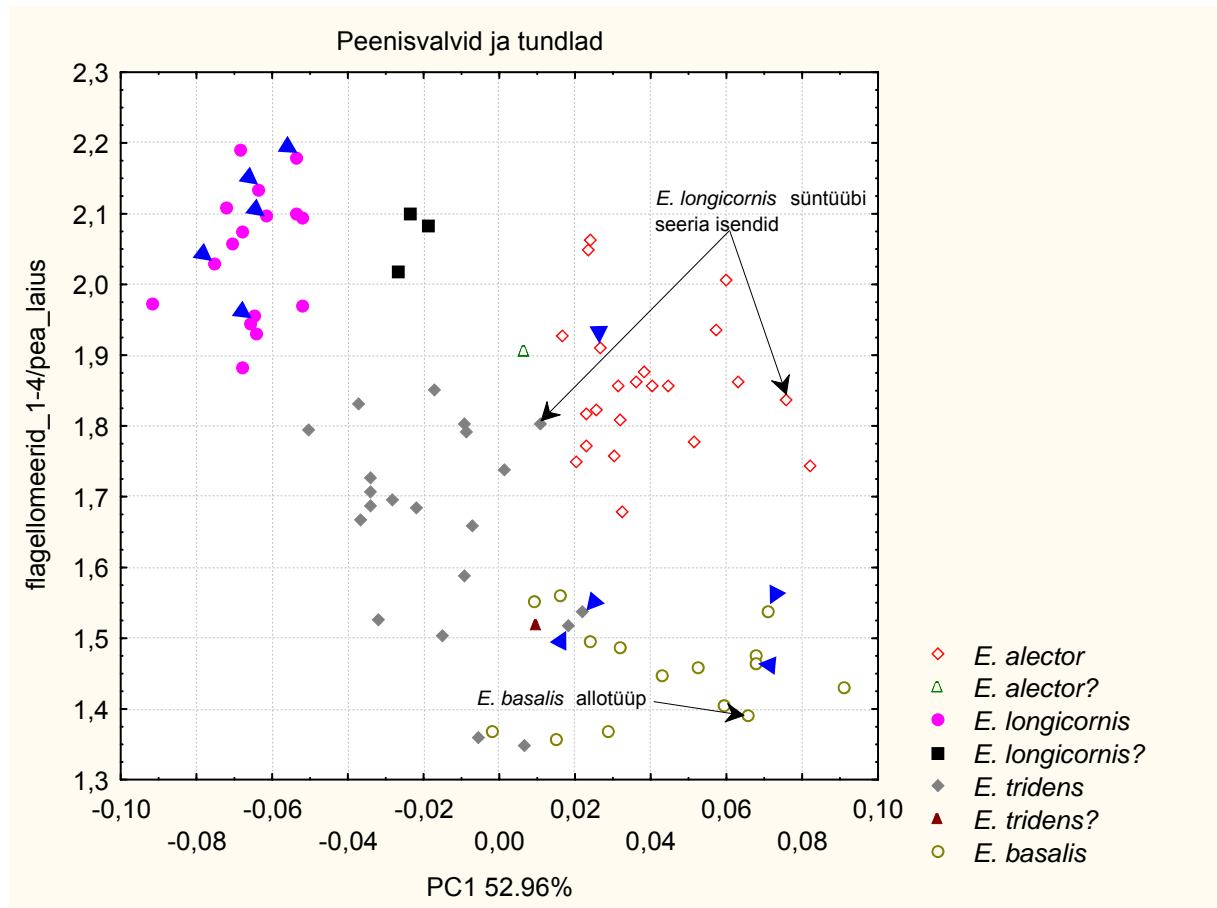


Joonis 7. Peenisvalvide ja tundlate morfoomeetria. Toodud on valvitsepsi ja valvura pikkuse suhe ( $v1v2/v2v3$ ) ning tundlate (1.–4. flagellomeer) suhteline pikkus. Noolteotstega on tähistatud *ex ovo* kasvatatud isendid.

Piisavaks eristamiseks tuli arvesse võtta nii tundlate suhtelist pikkust kui ka peenisvalvide geomeetrisel morfoomeetria analüüside tulemusi. Nende alusel saab selle liigirühma liike juba üsna kindlalt eristada. Joonistel 8 ja 9 on geomeetrisel morfoomeetria analüüside esimene peakomponent kombineeritud tundlate suhtelise pikkusega: näha on, et liigid *E. alector*, *E. longicornis* ja *E. basalis* eristuvad selgelt (nagu juba selgus kasutades valvitsepsi suhtelist pikkust kombinatsioonis tundlate suhtelise pikkusega). Kui suhteliselt pikkade tundlatega *E. tridens* isendeid ei saanud eristada tundlate ja peenisvalvide lineaarmõõtude suhete põhjal



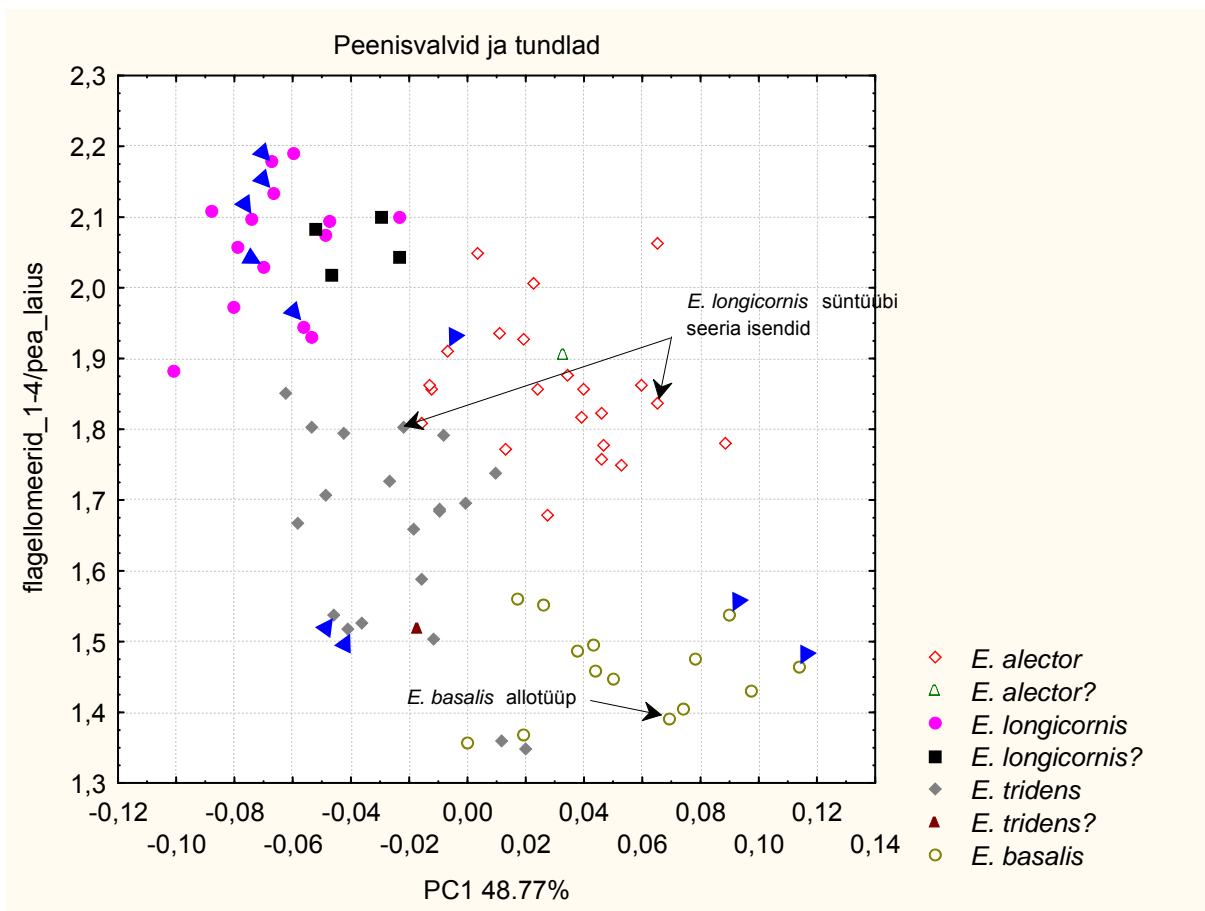
alati liigist *E. alector* (joon. 7; lisa 3, joon. 31), siis üheksa võrdluspunkti analüüsil eristusid nad üsna hästi (joon. 8; lisa 3, joon. 32). Kõiki liikide *E. tridens* ja *E. basalis* isendeid aga siiski 9 võrdluspunkti analüüsi esimese peakomponendi ja tundlate põhjal eristada ei õnnestunud (joon. 8); küll aga eristusid need liigid üksteisest enam-vähem geomeetrilise morfomeetria analüüsi esimese ja kolmanda peakomponendi põhjal (lisa 3, joon. 32).



Joonis 8. Peenisvalvide geomeetiline morfomeetria (9 võrdluspunkti) ja tundlad. Toodud on geomeetrilise morfomeetria analüüsi esimene peakomponent ja tundlate suhteline pikkus. Noolteotstega on tähistatud *ex ovo* kasvatatud isendid.

Et liike *E. tridens* ja *E. basalis* peenisvalvide põhjal paremini eristada, püüti nende võrdlemisel kõrvaldada valvura mõju (valvitsepti ja valvura pikkuste suhe ei ole antud liikide eristamisel informatiivne; joon. 7) ning analüüsida ainult valvitsepsi kuju, jättes analüüsist välja 8. võrdluspunkti (vt. joon. 1B). Järele jäänud 8 võrdluspunkti analüüsi esimese peakomponendi ja tundlate suhtelise pikkuse hajuvusdiagramm on kujutatud joonisel 9, millelt on näha, et kahte liigi *E. tridens* isendit siiski liigist *E. basalis* ei erista. Võrreldes aga joonisega 8 on kaks *ex ovo* kasvatatud *E. tridens* isendit selgelt eristunud kõigist liigi *E. basalis* esindajatest (joon. 9). Kaheksa võrdluspunkti analüüsi esimese ja neljanda

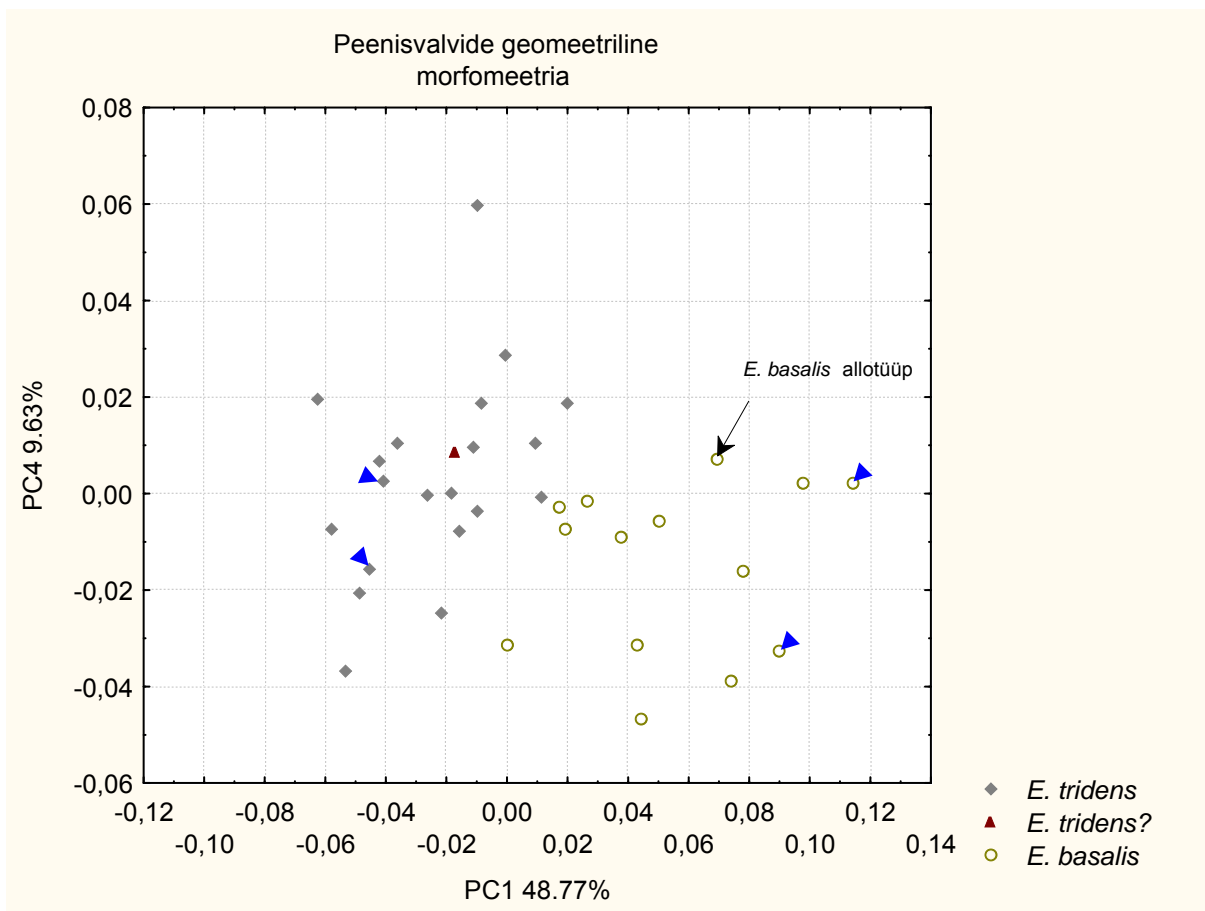
peakomponendi järgi eristuvad aga kõik liikide *E. tridens* ja *E. basalis* isendid (joon. 10), kuid see eristumine ei ole väga selge.



Joonis 9. Peenisvalvide geomeetiline morfomeetria (8 võrdluspunkti) ja tundlad. Toodud on geomeetrilise morfomeetria analüüsi esimene peakomponent ja tundlate suhteline pikkus. Noolteotstega on tähistatud *ex ovo* kasvatatud isendid.

Hajuvusdiagrammidel (joon. 5–10; lisa 3, joon. 31–33) küsimärgiga märgitud isendeid ei õnnestunud peenisvalvide põhjal kindlalt ära määrata. Küsimärgiga *E. alector* (peenisvalv, lisa 1, joon. 26A) on ebatüüpiline võrreldes teiste liigi *E. alector* esindajatega suhte  $v1v2/v2v3$  poolest (joon. 7), kuid valvitsepsi pikkuse ja pea laiuse suhte järgi paistab siiski olevat tegemist tüüpilise liigi *E. alector* esindajaga (lisa 3, joon. 31). Küsimärgiga *E. tridens* isendi peenisvalv (lisa 1, joon. 26D) on suhte  $v1v2/v2v3$  (joon. 7) ning valvitsepsi pikkuse ja pea laiuse suhte põhjal (lisa 3, joon. 31) pigem liigi *E. alector* esindaja, kuid tundlate suhtelisele pikkusele ja valvitsepsi kujule (joon. 9) tuginedes võib siiski pidada liigi *E. tridens* esindajaks. Küsimärgiga *E. longicornis* isendid (peenisvalv, lisa 1, joon. 26C) erinevad tüüpilistest liigi *E. longicornis* esindajatest selgelt suhte  $v1v2/v2v3$  poolest (joon. 7) ning peenisvalvide geomeetrilise morfomeetria analüüside (9 võrdluspunkti) põhjal võiks neid

pigem käsitleda liigi *E. tridens* esindajatena (lisa 3, joon. 32); tundlate põhjal on aga tegemist tüüpiliste *E. longicornis* isenditega (joon. 6).



Joonis 10. Liikide *E. tridens* ja *E. basalis* eristamine peenisvalvide morfoloogia põhjal. Joonisel on kujutatud geomeetrilise morfomeetria 8 võrdluspunkti analüüsi tulemused (esimene ja neljas peakomponent). Liigid *E. alector* ja *E. longicornis* on jooniselt välja jäetud.

Diskriminantanalüüs isastel viidi läbi samamoodi kui emaste puhul. Mõõdetud tunnuste ja geomeetrilise morfomeetria analüüside peakomponentide kohta vaata tabel 10 (lisa 4). Enne analüüsi jäeti rühma kuuluvus määramata järgmistel isastel: ebatüüpiliste peenisvalvidega isendid (hajuvusdiagrammidel märgitud küsimärgiga) ja mõned peenisvalvide põhjal liikideks *E. tridens* ja *E. basalis* määratud isendid, kes 8 võrdluspunkti analüüsi tulemuste ja tundlate suhtelise pikkuse põhjal peaaegu eristamatud on (joon. 9 ja 10).

Rühmad eristumine diskriminantanalüüsi tulemusel oli väga oluline: minimaalne F-väärtus liikide *E. basalis* ja *E. tridens* eristamisel 15,592 ning maksimaalne *E. basalis* ja *E. longicornis* eristamisel 43,791; p-väärtus kõikidel juhtudel alla 0,001.

Tabelis 6 on toodud *forward stepwise* meetodil välja valitud olulisimad tunnused, mis võimaldavad liike eristada. Tabelis 7 on toodud usaldusväärset määratud isaste klassifitseerimine diskriminantanalüüsi põhjal ning tabelis 8 enne analüüsi määramata jäetud isaste kõige tõenäolisem rühma kuuluvus vastavalt usaldusväärset määratud isaste põhjal leitud diskriminantfunktsioonile.

Tabel 6. Diskriminantanalüüsi *forward stepwise* meetodil valitud olulisimad klassifikaatorid ja neid iseloomustavad statistikud.

Klassifitseeriv tunnus	F-entr/rem	p-väärtus	Wilks' Lambda	Osaline Lambda	p-väärtus	Tolerants
PC1 52.96% (9 võrdluspunkti)	88.9415	0.0000	0.0049	0.8145	0.0635	0.4820
Tundlapiu_pikkus/pea_laius	47.1683	0.0000	0.0098	0.4027	0.0000	0.5124
3.flagellomeeri_pikkus/ 2.flagellomeeri_pikkus	14.9271	0.0000	0.0085	0.4674	0.0000	0.6561
PC1 48.77% (8 võrdluspunkti)	4.3878	0.0091	0.0063	0.6270	0.0009	0.2558
PC3 8.39% (9 võrdluspunkti)	5.9270	0.0019	0.0059	0.6703	0.0027	0.2592
v1v2	3.6495	0.0206	0.0046	0.8662	0.1648	0.5757
PC4 9.63% (8 võrdluspunkti)	2.0652	0.1211	0.0045	0.8759	0.1950	0.7098
pikkus/laius (1. flagellomeer)	1.8724	0.1512	0.0047	0.8332	0.0906	0.5413
4.flagellomeeri_pikkus/ 3.flagellomeeri_pikkus	1.4062	0.2568	0.0047	0.8425	0.1077	0.4804
POL/pea_laius	1.2020	0.3234	0.0044	0.9066	0.3234	0.6766

Tabel 7. *Empria longicornis* liigirühma isaste (N=54) jaotumine diskriminantanalüüsi põhjal, kasutades tabelis 6 toodud tunnuseid (ei sisalda isendeid, kes jäeti enne analüüsi klassifitseerimata).

Vaadeldud jaotumine	% õigesti määratud	Ennustatav jaotumine			
		<i>E. alector</i>	<i>E. basalis</i>	<i>E. tridens</i>	<i>E. longicornis</i>
<i>E. alector</i>	100	17	0	0	0
<i>E. basalis</i>	100	0	11	0	0
<i>E. tridens</i>	100	0	0	14	0
<i>E. longicornis</i>	100	0	0	0	12
Kokku	100	17	11	14	12

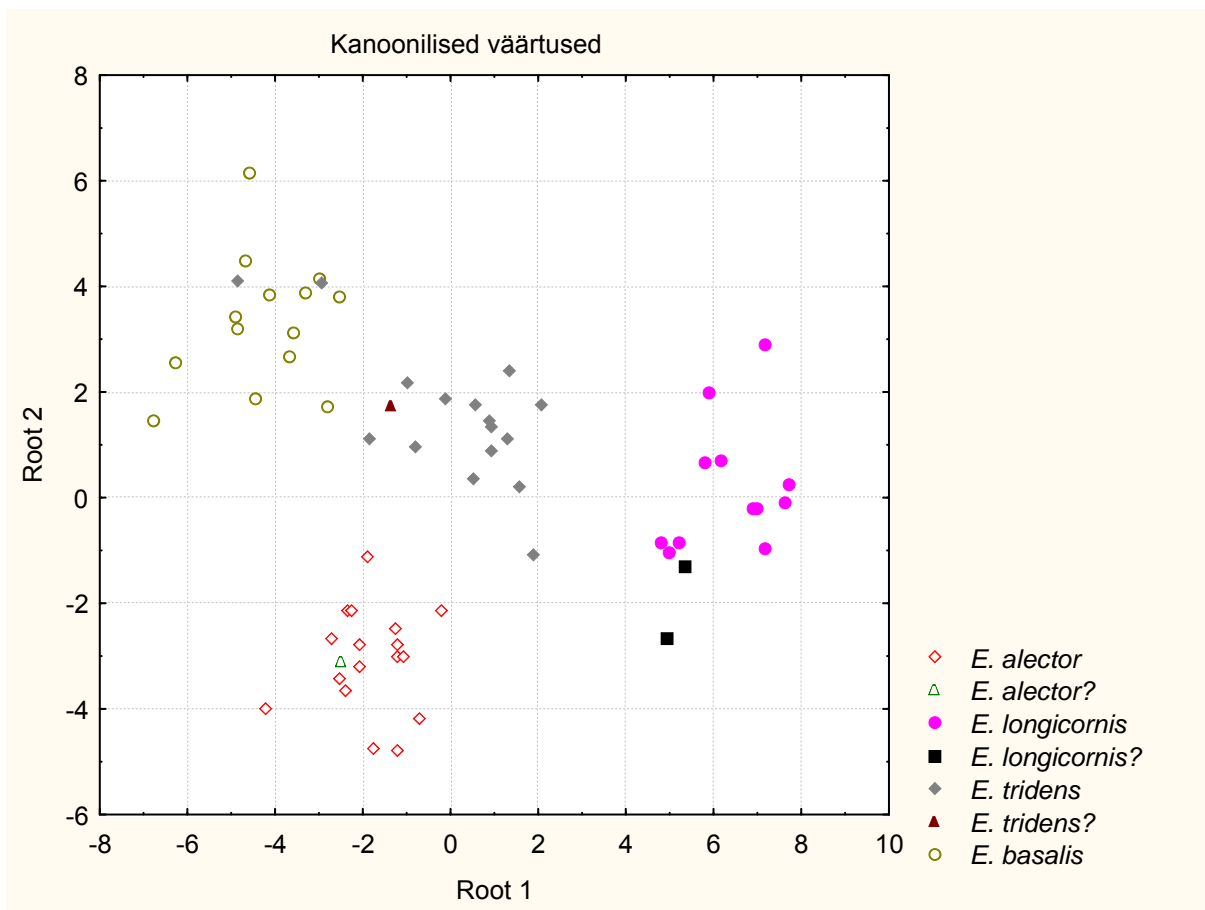
Tabelist 8 on näha, et kaks *E. tridens* isendit on diskriminantanalüüsi klassifitseerinud liigi *E. basalis* esindajaks. Peenisvalvide struktuuri põhjal otsustades (lisa 1, joon. 26E–F) võiks pigem arvata, et tegemist on ebatavaliselt lühikeste tundlatega liigi *E. tridens* isenditega (vt. tundlate suhtelise pikkuse kohta nt. joon. 9). Kui mainitud kahe isendi rühmaks oli enne diskriminantanalüüsi määratud *E. tridens*, siis analüüsi tulemused määrangut ei muutnud (tulemusi pole näidatud).

Tabel 8. Klassifitseerimata isendite jaotumine diskriminantfunktsiooni põhjal, mis leiti klassifitseeritud isendite (N=54) analüüsil, ja nende posterioorsed tõenäosused. Klassifitseerimata isendite veerus on antud isaste kõige tõenäolisem määrang, mis saadi peenisvalvide visuaalse võrdluse teel (osade isendite järel on toodud viide vastavate peenisvalvide joonistele).

Klassifitseerimata isendid	Posterioorsed tõenäosused			
	<i>E. alector</i>	<i>E. basalis</i>	<i>E. tridens</i>	<i>E. longicornis</i>
<i>E. alector?</i> lisa 1, joon. 26A	<b>0,999999</b>	0,000000	0,000001	0,000000
<i>E. basalis</i> lisa 1, joon. 26B	0,000000	<b>0,999956</b>	0,000044	0,000000
<i>E. basalis</i>	0,000260	<b>0,928834</b>	0,070906	0,000000
<i>E. basalis</i>	0,000000	<b>0,999058</b>	0,000942	0,000000
<i>E. longicornis?</i> lisa 1, joon. 26C	0,000000	0,000000	0,000000	<b>1,000000</b>
<i>E. longicornis?</i>	0,000000	0,000000	0,000000	<b>1,000000</b>
<i>E. tridens</i> lisa 1, joon. 26F	0,000000	<b>0,993960</b>	0,006040	0,000000
<i>E. tridens</i> lisa 1, joon. 26E	0,000000	<b>0,999921</b>	0,000079	0,000000
<i>E. tridens?</i> lisa 1, joon. 26D	0,000002	0,000024	<b>0,999975</b>	0,000000

Eelnevalt esitatud diskriminantanalüüsist olid välja jäänud kaks küsimärgiga *E. longicornis* isendit, kuna neil puudusid mitmed tunnused, mis olid olemas lõplikus diskriminantanalüüsis. Ühel isendil olid apikaalsed tundlalülid ära murdunud ja teisel puudusid deformatsioonide tõttu peenisvalvide 9 võrdluspunkti analüüsi tulemused. Vastavaid tunnuseid välja jättes klassifitseeritud isendid diskriminantanalüüsis liigi *E. longicornis* sekka (tulemusi pole näidatud).

Isaste diskriminantanalüüsi kanooniliste väärtuste hajuvusdiagrammil (joonisel 11) on kõik neli käesolevas töös käsitlust leidnud liiki hästi eristunud (välja arvatud kaks *E. tridens* isendit).



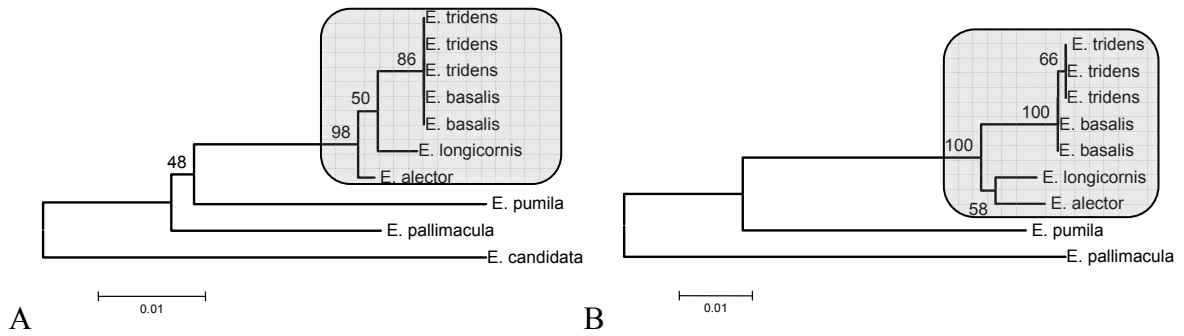
Joonis 11. Diskriminantanalüüsi kanooniliste väärtuste hajuvusdiagramm. Küsimärgiga ja mõned *E. basalis* ja *E. tridens* isendid jäeti enne analüüsi klassifitseerimata. On näha, et kaks isendit, kes peenisvalvide morfoloogia põhjal kuuluvad pigem liiki *E. tridens* (vt. lisa 1, joon. 26B, E–F) on diskriminantanalüüsil sattunud liigi *E. basalis* sekka.

### Molekulaarsed analüüsid

Sekveneeritud geenifragmentide pikkused varieerusid vahemikus: 451–466 bp (COI), 509–580 bp (COII) ja 384–412 bp (12S rRNA). Analüüside jaoks tehti järjestused ühe pikkusteks, mille tulemusel olid need koos insertioonide/deletsioonidega järgmised: 12S rRNA 385 bp (344 positsiooni invariantseid), COI 449 bp (384 positsiooni invariantseid) ja COII 531 bp (403 positsiooni invariantseid); kokku 1365 bp.

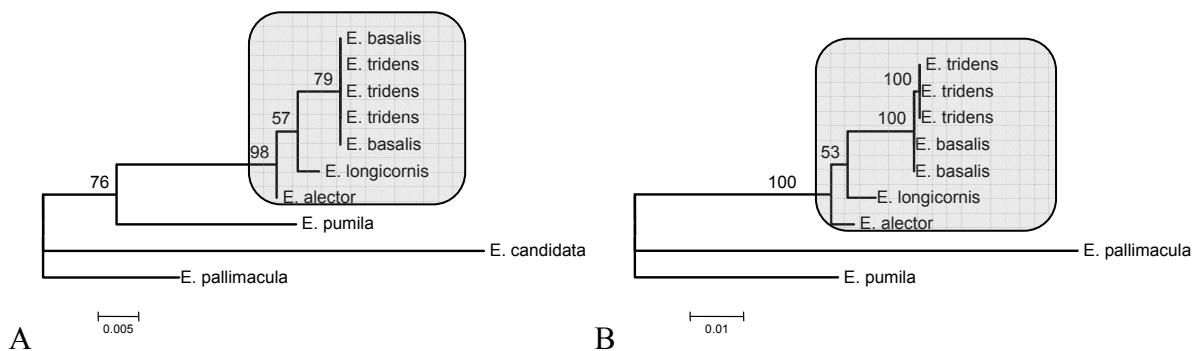
Sekveneeritud geenifragmentidest kahel juhul (12S rRNA ja COII) kolmest olid liikide *E. basalis* (2 isendit) ja *E. tridens* (3 isendit) järjestused identsed. Liigi *E. tridens* COI geenifragment aga erineb liigi *E. basalis* (ja ka teiste liikide) omast ühe nukleotiidi poolest (joon. 12), mis asub koodoni kolmandas positsioonis.





Joonis 13. 12S (A) ja COI+COII (B) geenifragmentide põhjal rekonstrueeritud NJ puud. Harude juures on näidatud *bootstrap* toetused protsentides (1000 pseudoreplikaati). *Empria longicornis* liigirühm on piiritletud halli alaga.

Suurima tõepära (ML) meetodil rekonstrueeritud puud 12S rRNA ja COI+COII geenifragmentide põhjal on kujutatud joonisel 14. Esitatud on ainult programmiga TreePuzzle 5.2 rekonstrueeritud *quartet puzzling* puud, programmiga Phylip 3.65 rekonstrueeritud kladogrammide topoloogia oli sama ja *bootstrap* toetused protsentides sarnased *quartet puzzling* toetustele. ML analüüside tulemuste erinevus võrreldes NJ analüüsidega oli COI+COII puu topoloogias: ML järgi on liik *E. longicornis* klaadi *E. tridens* + *E. basalis* sõsarrühmaks, aga NJ järgi on selleks liik *E. alector*. Tsütokroomoksüdaasi geenifragmente eraldi analüüsidest saadi ML meetodil samasugused puude topoloogiad (lisa 2, joon. 28) kui NJ meetodil (lisa 2, joon. 27), kuid *bootstrap* toetused klaadidele erinesid.

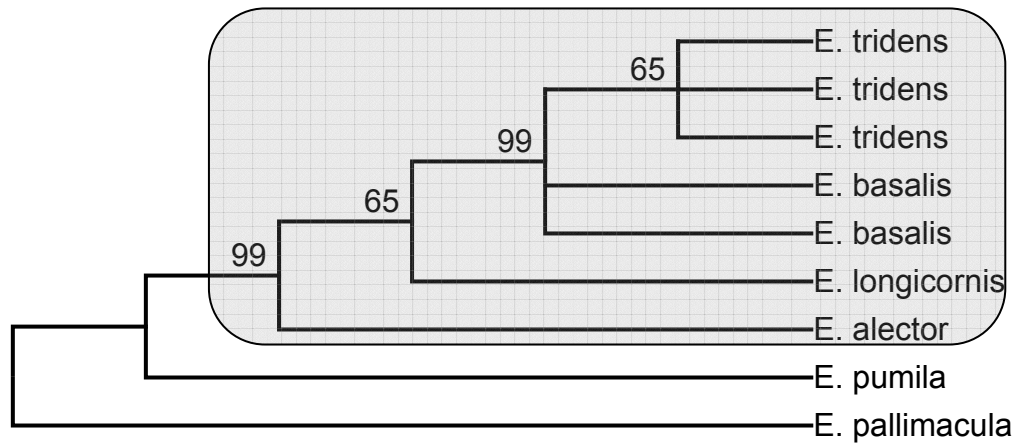


Joonis 14. 12S (A) ja COI+COII (B) geenifragmentide põhjal rekonstrueeritud ML puud. Harude juures on näidatud *quartet puzzling* toetused protsentides. *Empria longicornis* liigirühm on piiritletud halli alaga.

Lõpuks rekonstrueeriti fülogenees maksimaalse parsimoonia (MP) meetodil, kus kõik kolm geenifragmenti olid kombineeritud üheks järjestuseks. MP analüüsi tulemus on kujutatud joonisel 15. Kolme mitokondri geenifragmenti üheaegse analüüsi tulemus MP meetodil



erines sama meetodi tulemustest kui mõlemat valgugeeni (COI + COII) analüüsiti koos ja kui COII geenifragmenti analüüsiti eraldi (tulemusi pole näidatud); erinevuseks mainitud juhtudel on nagu varemgi liigi *E. longicornis* positsioonis: kas see liik on klaadi *E. tridens* + *E. basalis* või liigi *E. alector* sõsarrühmaks.



Joonis 15. 12S ja COI ja COII geenifragmentide põhjal rekonstrueeritud MP puu. Harude juures on näidatud *bootstrap* toetused protsentides (1000 pseudoreplikaati). Samasugune ja peaaegu identsete *bootstrap* toetustega puu leiti siis kui inserstsiioone/deletsioone käsitleti 5. tunnuse seisundina. *Empria longicornis* liigirühm on piiritletud halli alaga.

## ***Empria longicornis* liigirühma vastsete ja valmikute määramistabelid**

### **Valmikud**

Valmikute määramisel kasutatakse tihti värvustunnuseid, kuid need ei pruugi alati olla usaldusväärsed ja seetõttu tuleb selliseid tunnuseid käsitleda üksnes määramist hõlbustavate tunnustena. Liiki *E. tridens* saab tihti teistest liikidest eristada tagasääre ja tiiva servasoone alusel asuva skleriidi – tiivaketu (*tegula*) – värvuse põhjal (lisa 1, joon. 19B, F): liigil *E. tridens* on need struktuurid tihti suures osas valkjalt värvunud, teistel liikidel aga on need osad värvuselt üleni mustad või on valkjat värvust vähem. Lisaks saab suhteliselt pikkade tundlatega *E. tridens* isendid liikidest *E. alector* ja *E. longicornis* tavaliselt eristada selle järgi, et esimesel on tagakeha tergiitidel üks paar valkjaid laiike rohkem (vt. lisa 1, joon. 19A) kui viimatinimetatud liikidel. Liike *E. alector* ja *E. longicornis* (tagakeha tergiitidel on tavaliselt ühe palju valkjaid laiike) saab mõnikord eristada tagasääre värvuse põhjal: liigil *E. longicornis* on proksimaalses osas kitsas valkjas alus (lisa 1, joon. 19C), kuid liigil *E. alector* on tagasäär üleni must (lisa 1, joon. 19D). Käesolevas töös on valmikute määramistabelid emaste ja isaste kohta koostatud eraldi, kuna suurem osa diagnostiliselt olulistest tunnustest on suguliselt dimorfsed (sarnaselt on talitlenud ka Conde, 1940).

### *Emased*

Emaseid saab kõige usaldusväärsemalt määrata munetihammaste struktuuri alusel. Liikide *E. tridens* ja *E. longicornis* eristamiseks tuleb mõnikord arvesse võtta tundla flagellomeeride suhtelist pikkust ning abiks on ka tiivakettude ja tagasäärite värvus ning valkjate laikude arv tagakeha tergiitidel.

- 1. Munetihammaste struktuur joonistel 21A, 22A ja 23A (lisa 1).** Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe 1,8–2,1. Pikkuse laiuse-suhe 4. flagellomeeril 2,8–3,4 ja 5. flagellomeeril enamasti 2,6–3,2. Tagakeha tergiitidel tavaliselt 3 paari suuri ja 1 paar väikseid valkjaid laiike, tagajalgade sääred ja tiivaketud mustad. Vastsed angervaksal.  
.....*E. alector*
- **Munetihammaste struktuur teistsugune (lisa 1, joon. 21B–E; 22B–E ja 23B–F).**  
Vastsed vaarikal või mõõlal .....2
- 2. Basaalsed munetihambad ilma mikrohammasteta (lisa 1, joon. 21B; 22B ja 23B).**  
Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe 1,8–2,0. Pikkuse-laiuse suhe 4. ja 5. flagellomeeril 2,3–2,8. Tagakeha tergiitidel tavaliselt 4 paari suuri ja 1 paar väikseid

- valkjaid laiike, tagajalgade sääred ja tiivaketud enamasti mustad või servaosas pisut valged. Vastsed mõõlal. ....*E. basalis*
- **Basaalsed munetihambad mikrohammastega (lisa 1, joon. 21C–E; 22C–E ja 23C–F).** Vastsed vaarikal. ....3
3. **Munetihammaste struktuur joonistel 21C, 22C ja 23C (lisa 1). Pikkuse-laiuse suhe 4. flagellomeeril tavaliselt 3,2–4,0; 5. flagellomeeril 3,1–4,1 ning 6 flagellomeeril 3,3–4,4. 6. tundlalüli pikkus üle 0,42 mm.** Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe tavaliselt 2,3–2,7. Tagakeha tergiitidel tavaliselt 3 paari suuri ja 1 paar väikseid valkjaid laiike, tagajalgade sääred mustad või kitsa valge alusega, tiivaketud enamasti mustad .....*E. longicornis*
- **Munetihammaste struktuur joonistel 21D–E, 22D–E ja 23F (lisa 1). Pikkuse-laiuse suhe 4. flagellomeeril tavaliselt 2,5–3,2; 5. flagellomeeril 2,5–3,0 ning 6 flagellomeeril 2,5–3,2. 6. tundlalüli pikkus tavaliselt alla 0,40 mm.** Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe tavaliselt 1,9–2,3. Tagakeha tergiitidel tavaliselt 4 paari suuri ja 1 paar väikseid valkjaid laiike, tagajalgade sääred basaalosas ja tiivaketud enamasti suuremalt jaolt valged .....*E. tridens*

### *Isased*

Isaste määramisel on olulised tundlate ja peenisvalvi valvitsepsi suhtelised pikkused ning peenisvalvide ehitus. Üksteisest erinevad kõige selgemini liigid *E. longicornis* ja *E. basalis*. Lisaks tundlate suhtelisele pikkusele ja peenisvalvide morfoloogiale saab mainitud kahte liiki eristada ka 7. ja 6. flagellomeeri pikkuste suhte järgi. Erinevused 7. ja 6. flagellomeeri pikkuste suhtes ei ole suured, kuid liigil *E. longicornis* on see suhe reeglina alla 1,04, liigil *E. basalis* aga üle 1,06.

Liikide *E. tridens* ja *E. longicornis* peenisvalvid erinevad liikide *E. basalis* ja *E. alector* peenisvalvidest valvitsepsi ventrobasaalse osa kuju poolest: liikidel *E. tridens* ja *E. longicornis* on võrdluspunkte 5 ja 7 (vt. joon. 1B) läbiv sirge peaaegu paralleelne või väikse nurga alla peenisvalvi dorsoventraalse teljega, liikidel *E. basalis* ja *E. alector* aga on nimetatud sirge ning dorso-ventraalne telg omavahel oluliselt suurema nurga all. Valvitsepsi ventrobasaalse osa kuju põhjal siiski määramistabelit üles ei ehitatud, kuna kuju hindamine vastaval struktuuril võib olla problemaatiline.

1. **Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe üle 2,8 ning 5. flagellomeeri pikkuse-laiuse suhe üle 3,0.** .....2
- **Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe alla 2,8 ning 5. tundlalüli pikkuse-laiuse suhe alla 3,0.** Tagakeha tergiitidel tavaliselt 4 paari suuri ja 1 paar väikseid valkjaid laiike .....3
2. **Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe üle 3,0 ning valvitsepsi ja valvura pikkuse suhe alla 0,60 (tavaliselt alla 0,55). Peenisvalvid joonistel 24C ja 25D (lisa 1).** Valvitsepsi ja pea laiuse suhe tüüpiliselt alla 0,14. 5. tundlalüli pikkuse-laiuse suhe üle 3,0. Tagakeha tergiitidel tavaliselt 3 paari suuri ja 1 paar väikseid valkjaid laiike; tagajalgade sääred mustad või kitsa valkja alusega (lisa 1, joon. 19C), tiivaketud tavaliselt mustad. ....*E. longicornis*
- **Tundlate pikkuse ja peakapsli laiuse suhe alla 3,0 või on valvitsepsi ja valvura pikkuse suhe minimaalselt 0,57 (tavaliselt üle 0,60).** .....4
3. **Peenisvalvid joonistel 24D–E (lisa 1).** Tagajalgade sääred tavaliselt suurelt osalt ja tiivaketud rohkemal või vähemal määral valged (joon. 19B, F) .....*E. tridens*
- **Peenisvalvid joonistel 24B ja 25C (lisa 1).** Tagajalgade sääred ja tiivaketud tavaliselt mustad või vähesel määral valged .....*E. basalis*
4. **Peenisvalvid joonistel 24A ja 25A–B (lisa 1).** Valvitsepsi ja valvura pikkuse suhe üle 0,57 (tavaliselt üle 0,60). Valvitsepsi ja pea laiuse suhe üle 0,14. Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe tavaliselt 2,8–3,4. Tagakeha tergiitidel tavaliselt 3 paari suuri ja 1 paar väikseid valkjaid laiike; tagajalgade sääred ja tiivaketud mustad .....*E. alector*
- **Peenisvalvid joonistel 25E–G (lisa 1).** Valvitsepsi ja valvura pikkuse suhe 0,51–0,64. Valvitsepsi ja pea laiuse suhe tavaliselt 0,13–0,15. Tundlapiu pikkuse ja peakapsli laiuse suhe tavaliselt alla 3,0. Tagakeha tergiitidel tavaliselt 4 paari suuri ja 1 paar väikseid valkjaid laiike (joon. 19A); tagajalgade sääred tavaliselt suurelt osalt ja tiivaketud rohkemal või vähemal määral valged (joon. JoonisB, F) .....*E. tridens*

## Vastsed

Näärmekoonuste skulptuuri ja eelnukkude värvuse põhjal saab *E. longicornis* liigirühma jaotada kaheks: liikidel *E. alector* ja *E. longicornis* on näärmekoonused ogalise skulptuuriga ja eelnukud tume-pruunikashallid, liikidel *E. tridens* ja *E. basalis* on aga näärmekoonuste pind sile ja eelnukud värvuselt hallid. Alltoodud määramistabelis keskenduti eelkõige peakapsli ja kere värvustunnustele, mis on vastsetel hõlpsamini kindlaks tehtavad. Selgeid erinevusi harjaste ja näärmekoonuste arvus tagakehasegmentide erinevatel osadel, mis omaks diagnostilist väärtust vastset määramisel, kahjuks ei leitud.

1. Kuklalaik olemas ja parietaallaigud selgesti väljendunud (lisa 1, joon. 18E–F), tume laik päraakilbil olemas; näärmekoonused ogalise skulptuuriga (lisa 1, joon. 18A); eelnukud tume-hallikaspruunid (lisa 1, joon. 16G) .....***E. alector***  
— Kuklalaik olemas või puudub, parietaallaigud nõrgalt väljendunud või puuduvad; tume laik päraakilbil olemas või puudub; näärmekoonused siledad või nõrgalt ogalise skulptuuriga; eelnukud hallid kuni tume hallikaspruunid .....2
2. Päraakilbil tume laik reeglina olemas (lisa 1, joon. 18N; kuid vt. lisa 1, joon. 18L), alati ilma parietaallaikude ja tavaliselt ka ilma kuklalaiguta (kuid vt. lisa 1, joon. 18M); näärmekoonused ogalise skulptuuriga (lisa 1, joon. 18C); eelnukud tume-hallikaspruunid (lisa 1, joon. 16J). .....***E. longicornis***  
— Päraakilbil tume laik puudub või kui see olemas siis parietaallaigud samuti olemas; kuklalaik tavaliselt olemas; näärmekoonuste pind sile (lisa 1, joon. 18B, D); eelnukud hallid (lisa 1, joon. 16H–I, K). .....3
3. Parietaallaigud puuduvad (lisa 1, joon. 18J) või kui olemas siis tume laik päraakilbil samuti olemas (lisa 1, joon. 18I, K); kuklalaik selgelt väljendunud või praktiliselt puudub (lisa 1, joon. 18I–J). .....***E. tridens***  
— Parietaallaigud tavaliselt olemas, kuklalaik alati olemas ja tume laik päraakilbil puudub alati (lisa 1, joon. 18G–H). .....***E. basalis***

Liiki *E. alector* saab üsna kindlalt eristada teistest liikidest parietaallaikude järgi, mis sellel liigil on võrdlemisi suured ja ulatuvad peakapsli tagaservani. Kolme ülejäänud *E. longicornis* rühma liigi vastsete - *E. longicornis*, *E. tridens* ja *E. basalis* – üksteisest eristamine värvustunnuste põhjal võib mõnikord olla problemaatiline. Liigi *E. longicornis* peakapsel on reeglina ühtlaselt kollakas-pruun, kuid väga sarnaselt võib olla värvunud ka liigi *E. tridens* peakapsel; sellisel juhul saab neid liike eristada tumedate laikude olemasolu (*E. longicornis*) või puudumise (*E. tridens*) järgi päraakilbil. Siiski võib kahe eelmise liigi eristamine

värvustunnuste põhjal osutada veelgi raskemaks juhtudel, mil liigi *E. longicornis* vastsetel tume laik päraakilbil puudub või kui liigi *E. tridens* vastsetel, kelle pea on praktiliselt ühtlaselt kollakaspruun, on vastav laik olemas (selliseid liigi *E. tridens* vastseid pole käesoleva töö autoril õnnestunud seni kasvatada, kuid vt. Conde, 1934). Erinevalt liigist *E. tridens*, saab liigi *E. basalis* vastseid liigi *E. longicornis* vastsetest kergemini eristada: *E. basalis* vastsetel on alati olemas kuklalaik ja tume laik päraakilbil puudub. Liikide *E. tridens* ja *E. basalis* vastsete eristamine võib olla keeruline juhtudel kui mõlemal puuduvad parietaallaigud ja *E. tridens* isenditel puudub ka tume laik päraakilbil; sellisel juhul ei saa liike eristada ka mitte näärmekoonuste skulptuuri järgi.

Kirjanduses on varem kirjeldatud kolme liigi vastseid: *E. longicornis* (= *E. rubi*; Kontuniemi, 1951), *E. tridens* (Miles, 1936; Lorenz & Kraus, 1957) ja *E. alector* (Kontuniemi, 1955). Kõik mainitud kirjeldused sobivad käesoleva töö tulemustega, kuid tuleb märkida, et liigi *E. tridens* isendeid, kellel puuduvad parietaallaigud ja tume laik päraakilbil, pole varem kirjeldatud ning seetõttu võib ainuke varasem *E. longicornis* rühma vastseid sisaldav [ainult liigid *E. tridens* ja *E. longicornis* (= *E. rubi*)] määramistabel (Lorenz & Kraus, 1957) anda selle liigi valemäärangu.

Põgusalt on liigi *E. tridens* vastseid maininud Conde (1934), kelle järgi toituvad nad vaarikal ja mõõlal. Conde (1934) lühikirjelduse järgi on vastsete päraakilbil olemas tume kolmnurkne laik, parietaallaigud puuduvad ning kuklalaik on nõrgalt väljendunud. Arvestades, et ühe toidutaimena märkis Conde (1934) mõõla, siis on võimalik, et tema vaadeldud vastsete seas oli liigi *E. basalis* esindajaid (see liik kirjeldati hiljem, vt. Lindqvist, 1968); samas aga arvestades värvusmusteri kirjeldust võiks pigem tegemist olla liigiga *E. longicornis*, kuid ei saa välistada ka liiki *E. tridens* (selliste värvustunnuste kombinatsiooniga *E. tridens* isendeid pole aga autoril õnnestunud kasvatada).

## Arutelu

Käesoleva töö tulemuste põhjal võib väita, et *Empria longicornis* liigirühma binoomenid *E. longicornis*, *E. tridens*, *E. alector* ja *E. basalis* tähistavad kindlasti eri liike, kuid nende liikide ühene määramine ainult isaste, emaste või vastsete järgi võib mõnikord olla problemaatiline.

Emaste puhul võib keerukas olla liikide *E. longicornis* ja *E. tridens* määramine, kuna need ei eristu hästi munetite morfoloogia ja tundlate suhtelise pikkuse põhjal; küll aga eristuvad liigid 5. ja 6. flagellomeeri suhtelise pikkuse ja 6. flagellomeeri absoluutse pikkuse alusel.

Isaste puhul on probleemne mitmete liigi *E. tridens* isendite eristamine teistest *E. longicornis* rühma liikidest. Liike *E. tridens* ja *E. longicornis* võib mõnikord olla keerukas eristada üksnes peenisvalvide põhjal [vrld. joonist 25G joonistega 25D ja 24C (lisa 1)], kuid tundlate suhtelise pikkuse järgi eristuvad nad siiski võrdlemisi hästi (joon. 6). Paljud liigi *E. tridens* isendid ei eristu tundlate suhtelise pikkuse põhjal liigist *E. alector* ning paraku mitte alati ka geomeetrilist morfomeetriat kasutades (joon. 9; lisa 1, joon. 33); selle üheks põhjuseks on preparaatides tekkivad deformatsioonid. Üldiselt on liigid *E. alector* ja *E. tridens* peenisvalvide järgi siiski eristatavad ning lisaks erinevad need peaaegu alati ka värvustunnuste poolest. Keerukaimaks võib osutuda suhteliselt lühikeste tundlatelga *E. tridens* isasisendite eristamine liigi *E. basalis* isastest. Tavaliselt on liigid *E. tridens* ja *E. basalis* peenisvalvide morfoloogia põhjal siiski eristatavad, kuid mitte alati ei saa määrangutes täiesti kindel olla, mida kinnitasid morfomeetriselised analüüsid (vt. joon. 8–10) ja diskriminantanalüüs (joon. 11).

Vastsete värvustunnuste põhjal võib keerukaimaks osutuda liigipaaride *E. tridens* ja *E. longicornis* ning *E. basalis* ja *E. tridens* eristamine. Liike *E. tridens* ja *E. longicornis* saab aga üksteisest eristada näärmekoonuste skulptuuri ja eelnukkude värvuse järgi (vrld. joon. 16J ja K ning joon. 18C ja D). Kui liikide *E. tridens* ja *E. basalis* vastsed ei erine värvustunnuste poolest, siis ei saa neid paraku eristada ka näärmekoonuste skulptuuri ega ka eelnukkude värvuse põhjal (joon. 16H–I, K ja joon. 18B, D).

Seega võib, nagu juba mainitud, emaseid ja isaseid valmikuid ning vastseid eraldi käsitledes kõigi nelja liigi üheaegsel eristamisel probleeme tulla, kuid arvestades korraga emaste munetite, isaste peenisvalvide ja vastsete morfoloogiat, eristuvad kõik neli liiki üksteisest selgelt. Kui liikide *E. tridens* ja *E. longicornis* emaste munetid on küllalt sarnased, siis

vastsete näärmekoonuste skulptuuri, eelnukkude värvuse ning isaste genitaalide ja tundlate suhtelise pikkuse põhjal eristuvad need liigid paremini. Liigid *E. tridens* ja *E. basalis* ei pruugi alati eristuda isaste ning vastsete morfoloogia põhjal, kuid emaste munetihammaste struktuuris (lisa 1, joon. 21B, D–E; joon. 22B, D–E) ja tavaliselt ka munetite üldises kujus (joon. 3) on olemas selged erinevused; lisaks on mõlema liigi peremeestaim erinev.

Liigi *E. tridens* puhul võib siiski käesolevas töös olla probleemiks see, et munast ei õnnestunud kasvatada kahjuks ühtegi suhteliselt pikkade tundlatega isast; küll aga näitasid geenijärjestused kahelt „pikatundlaliselt” isasisendilt, et need kuuluvad suure tõenäosusega ühte liiki „lühitundlaliste” isenditega liigist *E. tridens* (joon. 12).

Kirjanduses on liigi *E. longicornis* toidutaimedeks lisaks vaarikale pakutud (ilma *ex ovo* kasvatuskatseteta) veel angervaksa (Kontuniemi, 1951) ja metsmaasikat (Zhelochovtsev & Zinovjev, 1988). Mainitud tähelepanekud võivad tingitud olla sellest, et *E. longicornis* (nagu ka *E. elector*) vastsed võivad ajutiselt nendel taimedel toituda, kuid emased arvatavasti munevad ainult mõnede taimeperekond muraka (*Rubus*) liikidele, kuigi see vajaks veel kontrollimist. Conde (1934) on märkinud, et liigi *E. tridens* vastsed toituvad nii vaarikal kui mõõlal (*Geum*), kuid tema poolt vaadeldud osade vastsete puhul võis tegemist olla liigi *E. basalis* esindajatega (kes võivad ajutiselt ka vaarikal toituda); samas aga märkis Conde seda, et vastsete päraakilbil on olemas tume laik, mistõttu võis vähemalt osade vaadeldud isendite puhul tegemist olla liigi *E. tridens* esindajatega. Käesoleva töö autoril pole liigi *E. tridens* vastseid ojamõõlal kasvatada õnnestunud, kuigi üksikutel kordadel on munemiseks seda taime emastele pakutud.

Varasemas kirjanduses kujutatud isaste peenisvalvide joonised liikide *E. tridens* (Benson, 1938) ja *E. longicornis* (Conde, 1940) kohta paistavad olevat korrektsed. Samuti on Lindqvist (1968) kõigi nelja tema poolt käsitlust leidnud *E. longicornis* rühma liigi (samad, mis käesolevas töös) isased *ex ovo* kasvatusi tegemata korrektselt sidunud vastavate emastega. Siiski võib Lindqvist (1968) poolt toodud liigi *E. alector* peenisvalvi joonis olla mõnevõrra eksitav, kuna seda on kujutatud üldmõõtmetelt väiksemana võrreldes teiste liikide peenisvalvidega; sellist erinevust ei pruugi aga *E. alector* isaste peenisvalvidel olla võrreldes teiste liikide valvidega (vt. joon. 24A ja 25B, kuid vt. ka joon. 25A).

Ermolenko (1971) poolt kirjeldatud *E. loktini* (seni teada ainult Sahhalini saarelt) on lähedane liikidele *E. longicornis*, *E. tridens* ja *E. basalis*. Selle liigi lisamine tulevastesse analüüsidesse võib liikide eristamise *E. longicornis* rühmas mõnevõrra keerulisemaks teha. Siiski erineb



*E. loktini* teistest liikidest selle poolest, et tagakeha tergiitidel on vähem valkjaid laiike (kaks paari; teistel liikidel minimaalselt kolm) ja emaste munetihammaste arv on väiksem (13; liigil *E. basalis* minimaalselt 14). Ermolenko (1971) oli liigi *E. loktini* isase peenisvalvi kujutaval joonisel märkinud ventro-apikaalses osas väikse hammasja väljakasvu olemasolu, mille kohta märkmed teiste *E. longicornis* rühma isaste peenisvalvidel on seni kirjanduses puudunud. Kõikidel käesolevas töös käsitlust leidnud liikide isastel on aga vastav väljakasv kindlalt olemas (vt. nt. joon. 20A, 24D; 25G ja 26E), kuid see võib prepareerimise tulemusel kergelt jääda märkamatuks.

Lähtudes asjaolust, et angervaks on paljude Palearktises levinud *Empria* liikide peremeestaimiks (Lacourt, 1999; Heidemaa & Prous, 2006) väljaspool *E. longicornis* liigirühma ja võttes arvesse liigi *E. alector* tõenäolise fülogeneetilise positsiooni (joon. 13A, 14–15; lisa 2, joon. 27A, 28A) võib püstitada hüpoteesi, et *Empria longicornis* liigirühma eellase peremeestaim oli samuti angervaks. Edasise evolutsiooni käigus *E. longicornis* rühmas spetsialiseerus liikide *E. longicornis*, *E. tridens* ja *E. basalis* ühine eellane vaarikale, liigi *E. basalis* eellane aga mõõlale.

Probleemiks fülogeneesi rekonstrueerimisel käesolevas töös võis ühelt poolt olla evolutsiooniliselt liiga kaugete välisrühma liikide valik, millele viitab nt. siserühmani viiva haru suhteline pikkus (joon. 13–14; lisa 2, joon. 27–28) võrreldes haru pikkustega *Empria longicornis* rühma sees, teiselt poolt aga, nukleotiidsete asenduste liiga aeglane tempo sekveneerimiseks valitud geenifragmentides ja nende ebapiisav pikkus antud liigirühma fülogeneetiliste suhete selgitamiseks. Sobivaimaks välisrühmaks *E. longicornis* liigirühma rekonstrueerimisel võiks olla liik *E. gussakovskii* Dovnar-Zapolskij, 1929, mille isaste genitaalid sarnanevad kõige rohkem *E. longicornis* liigirühma esindajate omadega (Benson, 1938; Zhelochovtsev & Zinovjev, 1988), kuid kelle kohta analüüsiks sobivat materjali pole seni veel õnnestunud hankida.

Liikide ja *E. longicornis* ja *E. tridens* munetite suur sarnasus (kuigi *E. tridens* on molekulaarsete andmete põhjal lähemal liigile *E. basalis*) võib tingitud olla sellest, et mõlema liigi peremeestaimiks on vaarikas, mistõttu puudub loodusliku valiku surve munetile, mis reeglina arvatavasti kaasneb uuele toidutaimete üleminekul. Sarnasel põhjusel võiksid erinevused või sarnasused munetite morfoloogias olla tingitud ka teistes *Empria* perekonna liigirühmades. Näiteks *E. immersa* liigirühmas erinevad kaks välistunnustelt sarnast liiki *E. immersa* ja *E. fletcheri* selgelt munetite morfoloogia poolest, kuigi isaseid on genitaalide põhjal on küllaltki keerukas eristada (Benson, 1938; Lindqvist, 1968; Zhelochovtsev &

Zinovjev, 1988). *Empria immersa* vastsed toituvad pajudel (Lorenz & Kraus, 1957; Verzhutskij, 1981), kuid *E. fletcheri* toidutaim on kahjuks seni veel teadmata. Sarnaselt *E. longicornis* liigirühmale võib oletada, et erinevused *E. immersa* ja *E. fletcheri* munetite morfoloogias on tingitud sellest, et neil *E. immersa* rühma liikidel on erinevad peremeestaimed. Seega võib oletada, et *E. fletcheri* peremeestaimeks pole mitte paju, vaid mõni teine liik, nt. madal kask [*Betula humilis* (= *Betula fruticosa*)], millelt Verzhutskij (1981) püüdis ühe isase (tõenäoliselt võib selleks olla ka mõni teine kaseliik).

Putukavalmikute määramisel on tihti olulise tähtsusega erinevused genitaalide ehituses. Lähedasi liike eristatakse enamasti genitaalide ehituse visuaalse võrdlemise teel, mis võib teinekord olla liiga subjektiivne. Käesolevas töös kasutatud geomeetrilise morfomeetria meetodite üks eeliseid on subjektiivsuse minimeerimine ja see aitab leida tunnuseid mis võivad määramiseks olla olulised, kuid mida pelgalt visuaalsel vaatlusel ei pruugi märgata (Mutanen & Pretorius, 2007).

## Kokkuvõte

Käesolev töö käsitleb *Empria longicornis* liigirühma nelja sümpatrilise liigi taksonoomiat, morfoloogiat ja bioloogiat, mille kohta senised teadmised on võrdlemisi puudulikud. *Empria longicornis* rühma peremeestaimede kindlaks tegemiseks, vastsete kirjeldamiseks ja kindlalt määratud isasisendite saamiseks viidi läbi *ex ovo* kasvatused. Kasvatuskatsete tulemusel saadud usaldusväärselt määratud isaste alusel püüti liigini määrata ka kättesaadavad isasisendid erinevatest kolleksioonidest (Eestis, Soomes, Rootsis ja Taanis) ning leida välistunnuseid liikide paremaks eristamiseks. Valmikutel (57 emast ja 91 isast) mõõdeti tundla flagellomeeride pikkused ja laiused, mõned kaugused peakapslil ning emaste muneteid ja isaste peenisvalve analüüsiti geomeetrilise morfomeetria meetoditega. Tundlate ja genitaalide tunnuste kombinatsioonil eristusid eri liikide nii emased kui isased piisavalt hästi. Arvestades ka vastsete morfoloogiat ja erinevusi peremeestaimedes võib piisava kindlusega väita, et tegemist on eri liikidega. Töö tulemuste põhjal koostati määramistabelid, mis võimaldavad määrata valmikuid ja vastseid senisest oluliselt usaldusväärsemalt. Lisaks püstitati kolme mitokondri geenifragmendi järjestuste analüüside põhjal fülogeneetilised hüpoteesid *longicornis*-liigirühma mõnede liikide põlvnemissuhete kohta. Selle tulemusel on välja pakutud ka võimalik stsenaarium, millises järjekorras toimus evolutsiooni käigus liikide üleminek ühelt toidutaimelt teisele. Liigi *Empria basalis* vastsed olid varem kirjeldamata ja peremeestaim (*Geum rivale*) teadmata.

## Tänuavaldused

Autor on tänulik juhendajale lektor Mikk Heidamaale, kes oli nõu ja jõuga alati abiks ning laenutas oma erakolleksiooni materjale. Tänu kuraatoritele Olof Biström ja Pekka Malinen Pekka (FMNH, Helsinki), Roy Danielsson (MZLU, Lund) ning Lars Vilhelmsen ja Ole Martin (ZMUC, Kopenhaagen), kes laenutasid muuseumide kolleksioonimaterjale (siinjuures tänud ka Mikk Heidemaale laenutuste organiseerimise eest). On meeldiv tänada veel doktorant Villu Soont, kes viis läbi DNA eraldamise ja sekveneerimise ning aitas teha vastavaid täpsustusi materjalide ja meetodite osas. Käesolevat tööd on toetatud ETF grandist nr. 6598.

## Summary

### **Tenthredinid sawflies of the *Empria longicornis* (Thomson) species group: taxonomy, morphology, and biology (Hymenoptera, Tenthredinidae)**

Taxonomy, morphology, and biology of four sympatric species of the *Empria longicornis* species-group are considered. *Ex ovo* rearings were carried out in order to determine the host plants of the species, to describe the larvae, and to verify that the males of this species group have been correctly associated with conspecific females. On the ground of *ex ovo* reared males it was possible to reidentify the males from different collections (in Estonia, Finland, Sweden, and Denmark) to the species level. Lengths and breaths of flagellomeres and some distances on the head capsule were measured. Geometric morphometrics was used to study the valvula 1 (in females) and the penisvalves (in males). Genitalia in combination with antennal characters appeared rather reliable for discrimination of the species. Considering also the larval morphology and differences in the larval host plants, it can be concluded that all studied species are indeed distinct. As a result, more reliable identification keys to the adults and the larvae are compiled. Moreover, on the basis of three mitochondrial gene fragments, preliminary hypotheses concerning the phylogeny of the *E. longicornis* species group are proposed. Also, a likely scenario of the host plant changes during the species group evolution is suggested. The larva and the host plant (*Geum rivale*) of *Empria basalis* were previously unknown.

## Kasutatud kirjandus

- Benson, R. B. 1938. A revision of the british sawflies of the genus *Empria* Lepeletier (Hymenoptera, Symphyta). Transactions of the Society for British Entomology 5: 181–198.
- Conde, von O. 1934. Ostbaltische Tenthredinoidea, II. Teil. Korrespondenzblatt des Naturforscher-Vereins zu Riga 61: 168–196.
- Conde, von O. 1940. Eine revision der mir bekannten *Empria*-arten (Hym. Tenthred.) und einige Bemerkungen zum Wesen der systematischen Forschungsarbeit. Deutsche Entomologische Zeitschrift 1–4: 162–180.
- Dovnar-Zapolsky, D. P. 1929. Einige neue oder wenig bekannte arten der gattung *Empria* Lep. (Hymenoptera), mit einer bestimmungstabelle der palaarktischen arten. Revue Russe d'Entomologie 23: 37–47.
- Ermolenko, V. M. 1971. Novye vidy i rod pililshchikov (Hymenoptera, Tenthredinidae) s ostrova sakhalin. Vestnik Zoologii Akademia Nauk Ukrainskoi SSR, Instytut Zoologi 5: 18–24. (vene keeles)
- Felsenstein, J. 2004. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle (<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>).
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95–98.
- Heidema, M. 2006. Additions and Changes to the Checklist of Sawflies (Hymenoptera: Symphyta) of Estonia (I). Pp. 341–342 in: Blank, S. M., Schmidt, S. & Taeger, A. (eds.) Recent Sawfly Research: Synthesis and Prospects, Goecke & Evers, Keltern.
- Heidema, M. & Prous, M. 2006. The larvae of *Empria pumila* (Konow, 1896) and *E. pumiloides* Lindqvist, 1968 (Hymenoptera: Tenthredinidae). Pp. 97–104 in: Blank, S. M., Schmidt, S. & Taeger, A. (eds.) Recent Sawfly Research: Synthesis and Prospects, Verlag Goecke & Evers, Keltern.
- Konow, F. W. 1896. Verschiedenes aus der Hymenopteren-Gruppe der Tenthrediniden. Wiener Entomologische Zeitung 16: 41–59.

- Kontuniemi, T. 1951. Zur Kenntnis des Lebenszyklus der Sägewespen (Hymenoptera, Symphyta) in Finnland. *Acta Entomologica Fennica* 9: 1–92.
- Kontuniemi, T. 1955. Zu Bionomie von *Empria alector* Bens. (Hym., Tenthredinidae). *Suomen Hyönteistieteellinen Aikakauskirja* 21: 22–23.
- Kumar, S., Tamura, K. & Nei, M. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150–163.
- Lacourt, J. 1999. Répertoire des Tenthredinidae ouest-paléarctiques (Hymenoptera; Symphyta). *Mémoires de la Société Entomologique de France* 3: 1–432.
- Lindqvist, E. 1968. Die *Empria*-Arten Finnlands (Hymenoptera, Symphyta). *Notulae Entomologicae* 48: 23–33.
- Lorenz, H., Kraus, M. 1957. Die Larvensystematik der Blattwespen (Tenthredinoidea und Megalodontoidea). *Abhandlungen zur Larvensystematik der Insekten* 1: 1–339.
- Miles, H. W. 1936. A contribution to our knowledge of the biology of certain sawflies of the genus *Empria* Lep. (Hymenoptera, Symphyta). *Journal of the Linnean Society, Zoology* 39: 465–478.
- Mutanen, M. 2005. Delimitation difficulties in species splits: a morphometric case study on the *Euxoa tritici* complex (Lepidoptera, Noctuidae). *Systematic Entomology* 30: 632–643.
- Mutanen, M. & Pretorius, E. 2007. Subjective visual evaluation vs. traditional and geometric morphometrics in species delimitation: a comparison of moth genitalia. *Systematic Entomology* 32: 371–386.
- Prous, M. 2005. Lehevaablaste perekonna *Empria* (Hymenoptera: Tenthredinidae) vastsete taksonoomiast, morfoloogiast ja bioloogiast. *Bakalaureusetöö erizooloogias. Käsikiri*. Tartu: 1–35.
- Rohlf, F. J. 2005a. tpsRelw, version 1.42. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).
- Rohlf, F. J. 2005b. tpsUtil, version 1.34. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).

- Rohlf, F. J. 2006. tpsDig, version 2.05. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>).
- Rufino, M. M., Gaspar, M. B., Pereira, A. M. & Vasconcelos, P. 2006. Use of Shape to Distinguish *Chamelea gallina* and *Chamelea striatula* (Bivalvia: Veneridae): Linear and Geometric Morphometric Methods. *Journal of Morphology* 267: 1433–1440.
- Schmidt, H. A., Strimmer, K., Vingron, M. & von Haeseler, A. 2002. TREE-PUZZLE: maximum likelihood phylogenetic analysis using quartets and parallel computing. *Bioinformatics*. 18: 502–504.
- Schulmeister, S. 2003. Genitalia and terminal abdominal segments of male basal Hymenoptera (Insecta): morphology and evolution. *Organisms Diversity & Evolution*. 3: 253–279.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Flook, P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved PCR primers. *Annals of the Entomological Society of America* 87: 651–701.
- Smith, D. R. 1979a. Nearctic sawflies IV. Allantinae: Adulta and larvae (Hymenoptera: Tenthredinidae). United States Department of Agriculture Technical Bulletin 1595: 1–172.
- Smith, D. R. 1979b. In: Krombein, K. V., Hurd, P. D., Smith, D. R. & Burks, B. D. (eds). *Catalog of Hymenoptera in America North of Mexico Volume 1: Symphyta and Apocrita (Parasitica)*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC: 1–137.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D. & Fink, W. L. 2004. *Geometric Morphometrics for Biologists: a Primer*. Elsevier, New York: 1–444.
- Zhelochovtsev, A. N. & Zinovjev, A. G. 1988. Podotrjad Symphyta (Chalastogastra) – Sidjachebrjukhie. – Pp. 7–234. – In: Zhelokhovcev (= Zhelochovtsev) A. N., Tobias V. I. & Kozlov, M. A. *Opredelitel' nasekomykh evropejskojchasti SSSR. T. 3. Pereponchatokrylye. Shestajachast'*. Leningrad, Nauka. (vene keeles)
- Taeger, A. & Blank, S. M. 2006. ECatSym - Electronic World Catalog of Symphyta (Insecta, Hymenoptera). Data Version 2 (August 11, 2006). - Digital Entomological Information, Müncheberg, [http://www.zalf.de/home\\_zalf/institute/dei/php\\_e/ecatsym/ecatsym.php](http://www.zalf.de/home_zalf/institute/dei/php_e/ecatsym/ecatsym.php)

Taeger, A., Blank, S. M. & Liston, A. D. 2006. European Sawflies (Hymenoptera: Symphyta) – A Species Checklist for the Countries. Pp. 399–504 in: Blank, S. M., Schmidt, S. & Taeger, A. (eds.) Recent Sawfly Research: Synthesis and Prospects, Verlag Goecke & Evers, Keltern.

Thévenaz, P., Lambiel, D. & Unser, M. 2006. A Strategy Based on Maximum Spanning Trees to Stitch Together Microscope Images. Proceedings of the SPIE International Symposium on Medical Imaging: Image Processing (MI'06) San Diego CA, USA, February 11-16, 2006, vol. 6144: 61442A–1-61442A-6.

Thomson, C. G. 1871. Hymenoptera Scandinaviæ. Håkan Ohlsson, Lund: 1–342.

Verzhutskij, B. N. 1981. Rastitelnoiadnye nasekomye v ekosistemakh Vostochnoi Sibiri (p'ililshchiki i pogohkvosty). Nauka, Novosibirsk: 1–302. (vene keeles)

Viitasaari, M. 2002. The suborder Symphyta of the Hymenoptera. In: Viitasaari, M. (ed). Sawflies I (Hymenoptera, Symphyta). A review of the suborder, the Western Palaearctic taxa of Xyeloidea and Pamphilioidea. Tremex Press, Helsinki: 11–174.

Wong, H. R. 1963. The external morphology of the adults and ultimate larval instar of the larch sawfly, *Pristiphora erichsonii* (Htg.) (Hymenoptera: Tenthredinidae). The Canadian Entomologist 95: 897–920.



## Lisa 1. Vastsete ja valmikute joonised



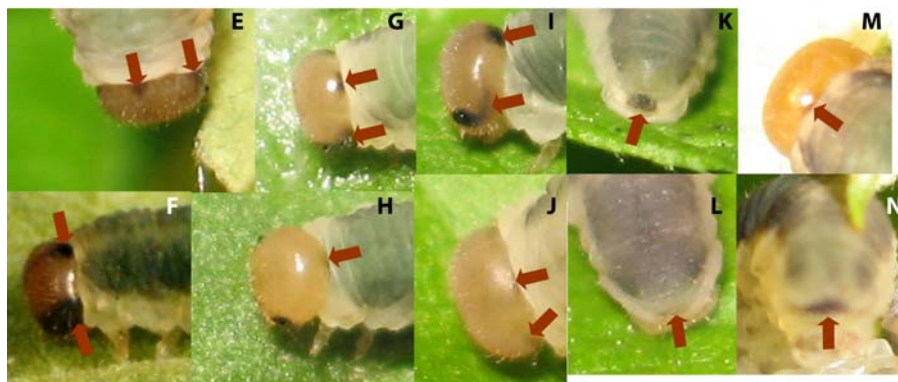
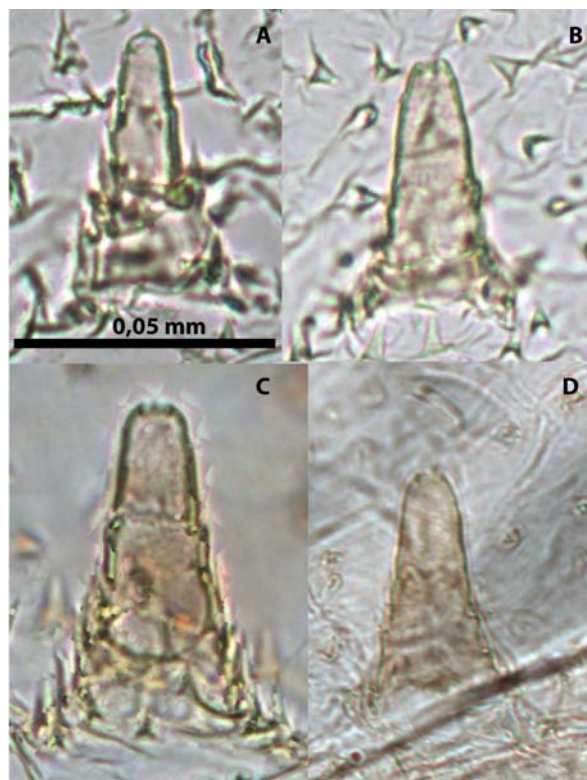
Joonis 16. Näiteid *Empria longicornis* liigirühma eri arengustaadiumeid. A – Emase *E. longicornis* munemas vaarika varre sisse. B – Liigi *E. longicornis* munad vaarikavarres (ei ole osajoonisel A kujutatud emase järglased). C - Liigi *E. tridens* munad vaarikavarres. D–E – Liigi *E. basalis* munad ojamõõla varres (eri emaste järglased). F – *E. longicornis*, toitumise lõpetanud viimase (V) kasvujärgu isend. G – liigi *E. alector* eelnukk. H–I – liigi *E. basalis* eelnukud (eri emaste järglased). J – liigi *E. longicornis* eelnukk. K – liigi *E. tridens* eelnukk. Osajoonisel A toodud skaala kehtib ka teiste osajooniste kohta.

Lisa 1 (järg)



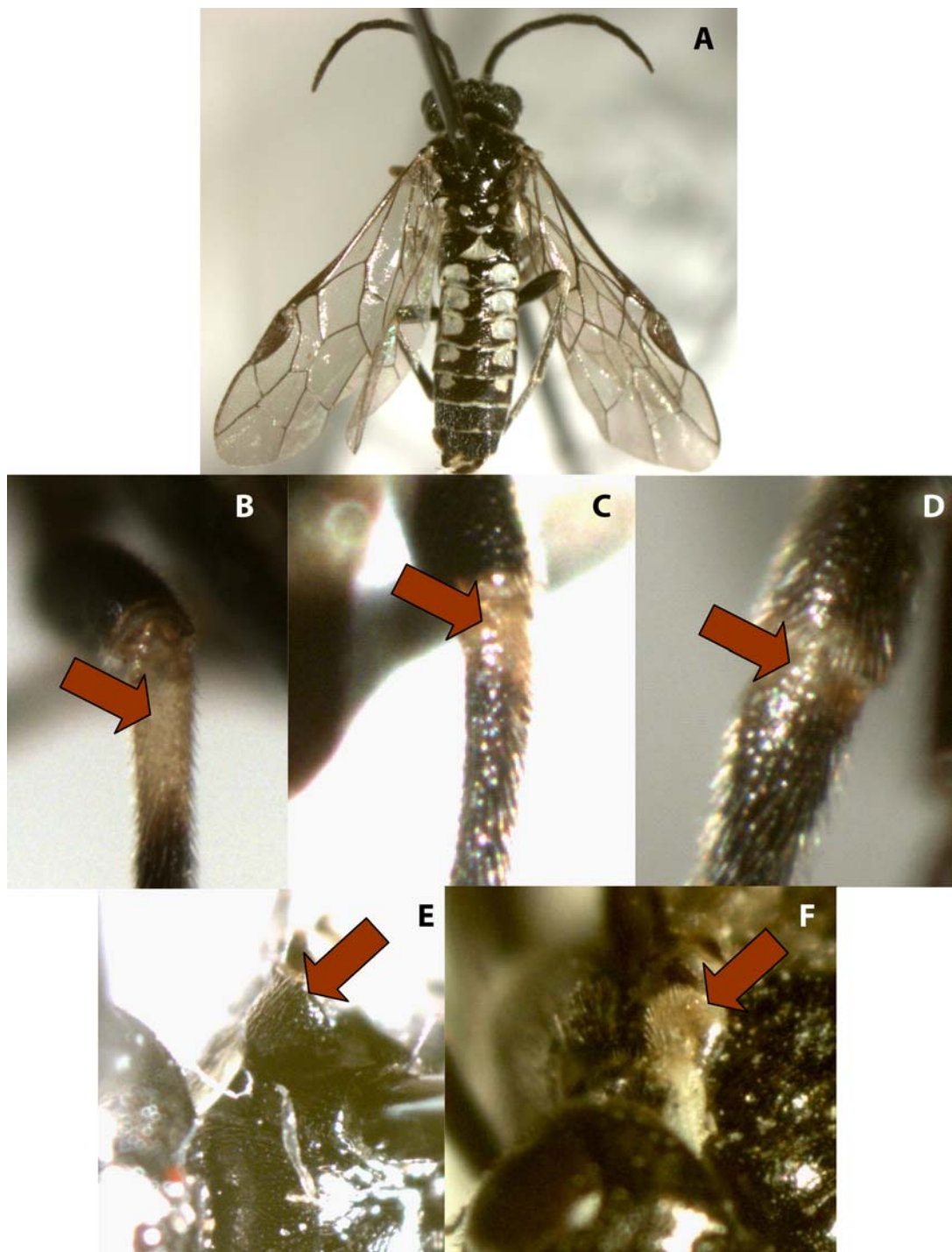
Joonis 17. Joonis. *Empria longicornis* liigirühma vastsed. Illustreeritud on viimaste (IV–VI) kasvujärkude isendid. A, B – *E. alector*, V (A) ja VI (B) kasvujärk; mõlemad eri emaste järglased. C–E – *E. longicornis*, V (C) ja VI (E, D) kasvujärgu isendid; kõik eri emaste järglased. F–H – *E. tridens*, IV (F) ja V (G, H) kasvujärgu isendid; kõik eri emaste järglased. I–K – *E. basalis*, IV (I, J) ja V (K) kasvujärgu isendid; osajoonised I ja J ühe ning osajoonis K teise emase järglased. Osajoonisel A toodud skaala kehtib ka osajoonistel C–K.

## Lisa 1 (järg)



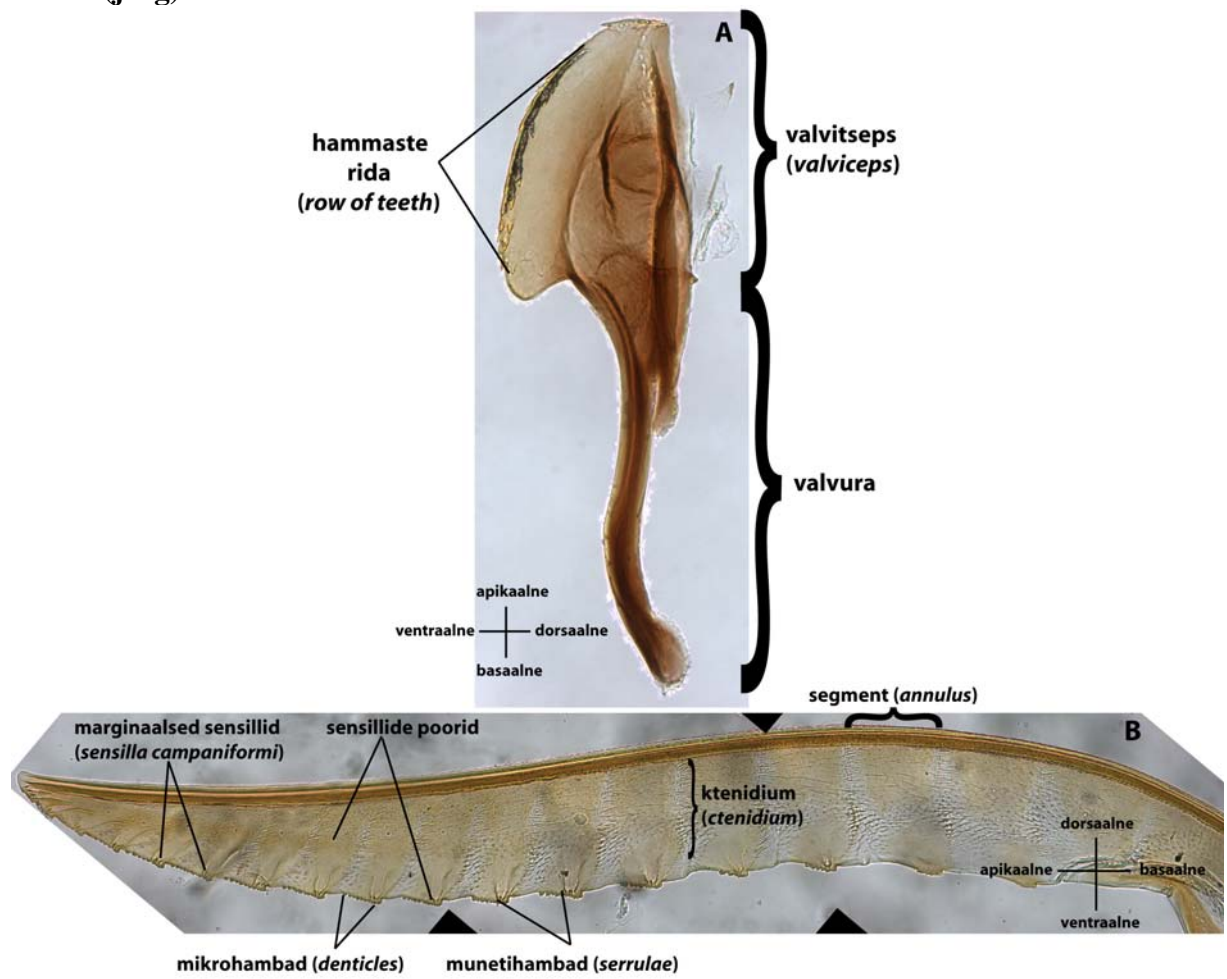
Joonis 18. Vastsete määramistunnustest. Illustreeritud on viimaste (IV–VI) kasvujärgkude isendeid. A–D – IV põikvoldi dorsaalsed näärmekoonused: *E. alector* (A), *E. basalis* (B), *E. longicornis* (C) ja *E. tridens* (D). E–F – *E. alector* ning kukla- ja parietaallaigud (eri emaste järglased). G–H – *E. basalis* ning kukla- ja parietaallaigud (sama emase järglased). Parietaallaigud on olemas (G) või puuduvad (H). I–K – *E. tridens*, kukla- ja parietaallaigud ning tume laik päraakilbil (I, K sama isend, J teise emase järglane). Kukla- ja parietaallaigud olemas (I) või peaaegu puuduvad (J); tume laik päraakilbil olemas (K) või puudub (pole näidatud). L–N – *E. longicornis*, kuklalaik ja laigud päraakilbil (M, N sama isend, L teise emase järglane). Kuklalaik tavaliselt puudub (pole näidatud), kuid võib esineda (K). Tume laik päraakilbil tavaliselt olemas (N), kuid võib ka peaaegu puududa (L). G–H – IV kasvujärk; A, B, D, E, I–K – V kasvujärk; C, F, L–N – VI kasvujärk. Skaala osajoonisel A kehtib samuti jooniste B–D kohta. Osajoonised E–N on eri skaalades.

## Lisa 1 (järg)



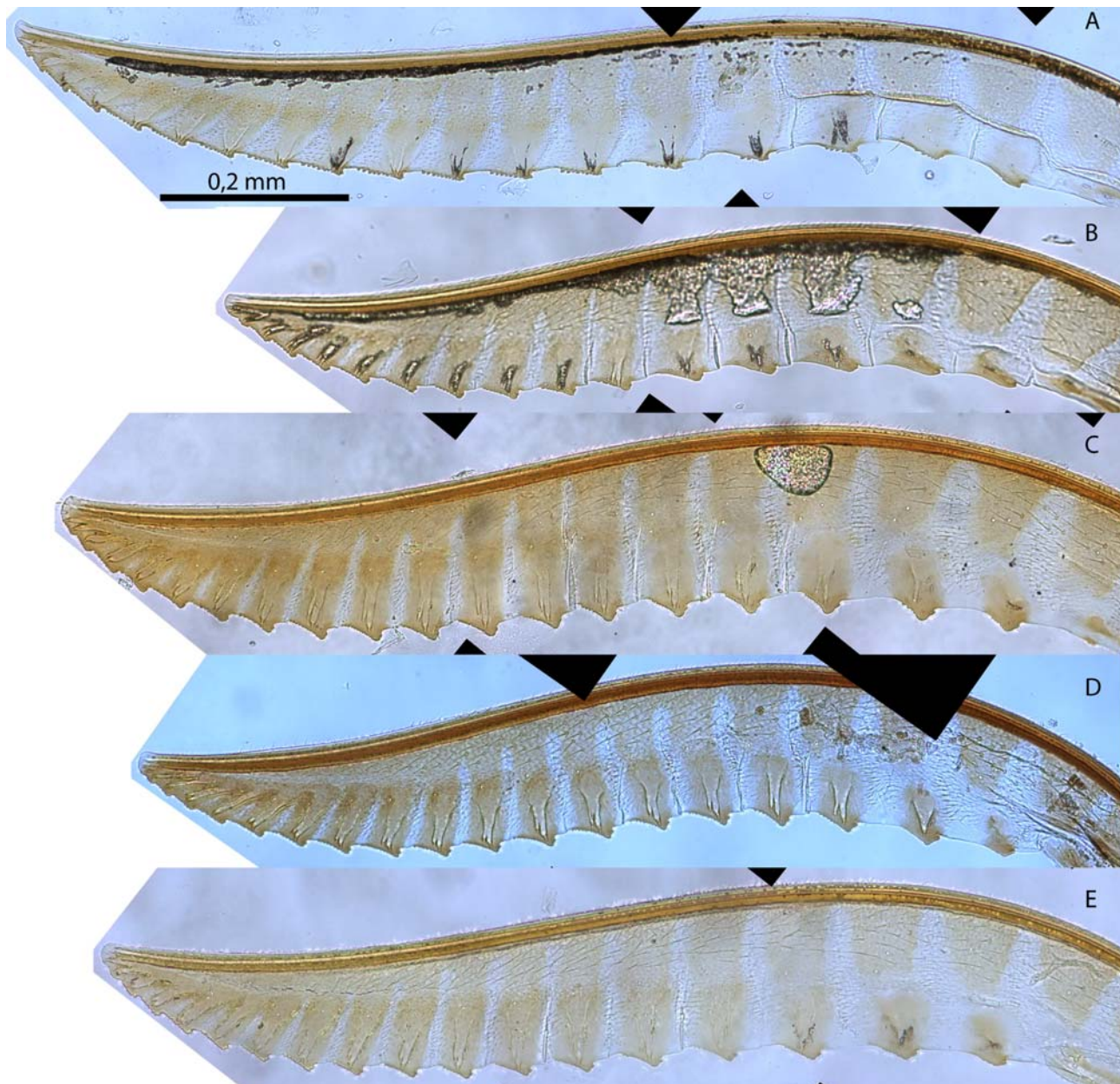
Joonis 19. Värvustunnused, mida kasutatakse valmikute määramisel *Empria longicornis* liigirühmas. A – Perekond *Empria* esindaja haabitus liigi *E. tridens* näitel. Selgelt on näha tagakeha tergiitidel asuvad valkjad laigud. B–C – Tagasääre proksimaalne osa liikidel *E. tridens* (B), *E. longicornis* (C) ja *E. alector* (D). Nooltega on märgitud tagasääre valkjas ala. E–F – Tiivakett (märgitud nooltega) värvus liikidel *E. alector* (E) ja *E. tridens* (F). Joonised eri skaalas.

Lisa 1 (järg)



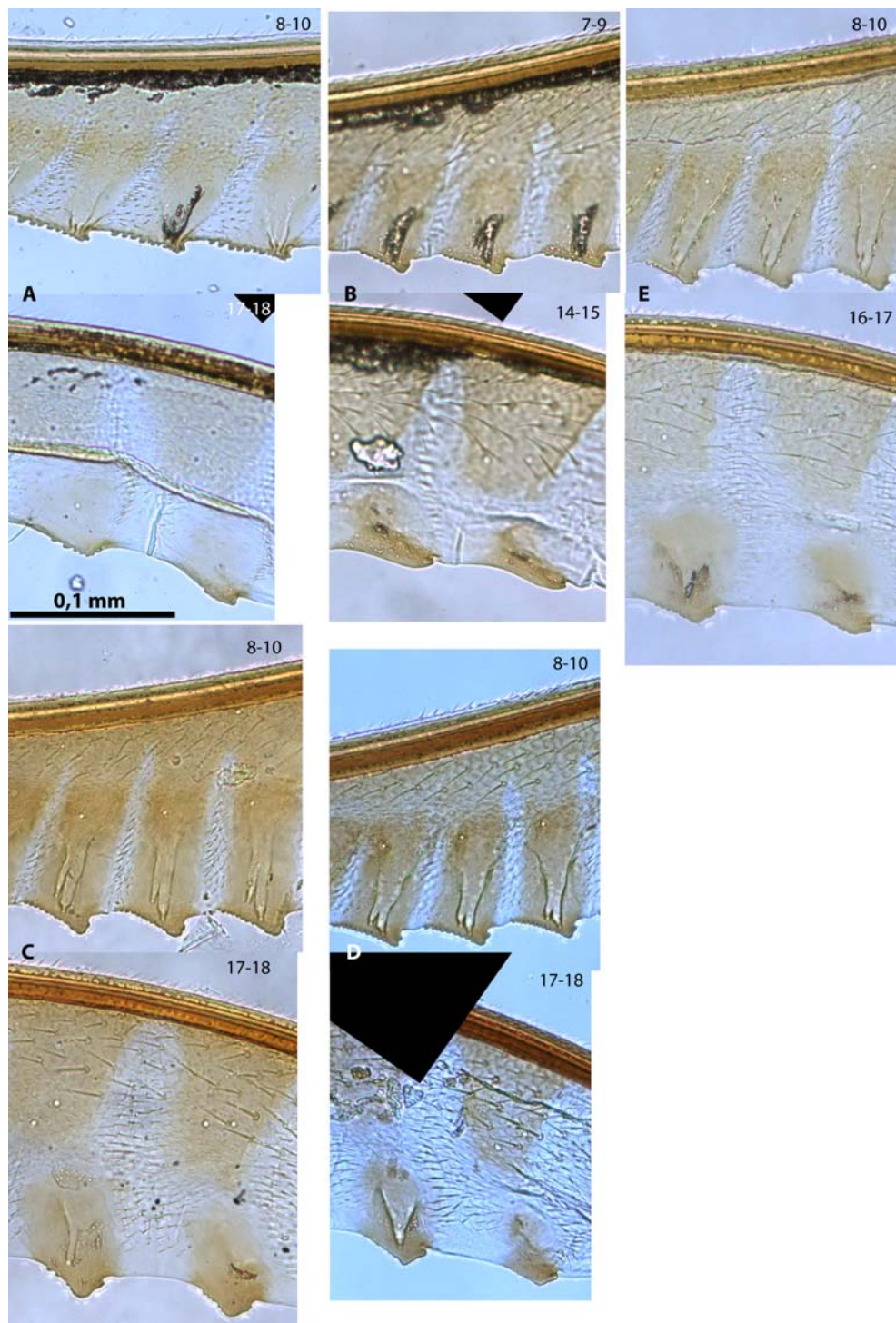
Joonis 20. Peenisvalvide ja munetite morfoloogia (liigi *E. alector* näitel). A – peenisvalv. B – muneti ventraalne osa valvula 1 (*lancet*). Joonised eri skaalas.

Lisa 1 (järg)



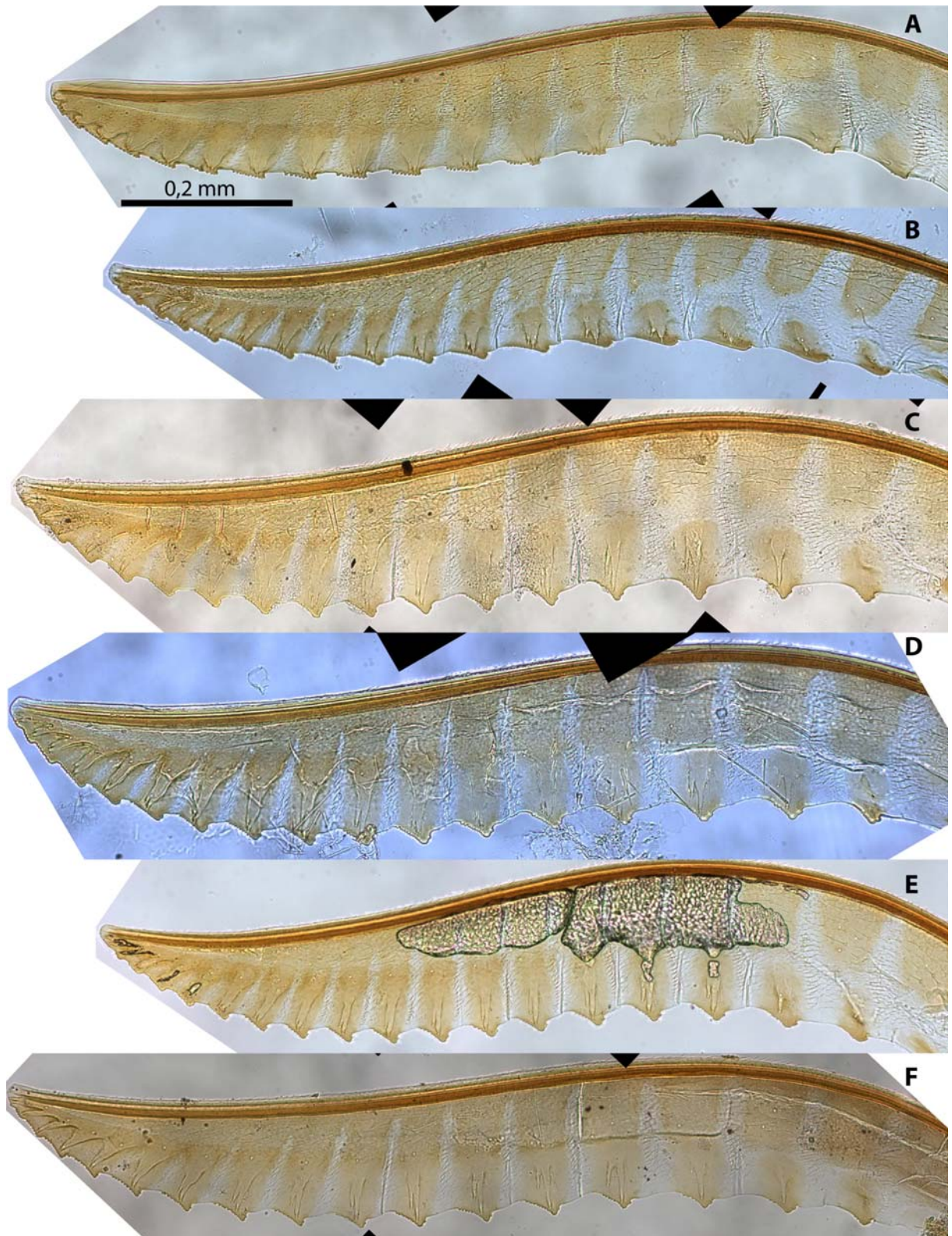
Joonis 21. Emaste munetite ventraalse osa (*valvula* 1) üldvaade. A – *E. alector*. B – *E. basalis*. C – *E. longicornis*. D–E – *E. tridens*, eri isendid. Osajoonisel A toodud skaala kehtib ka teiste osajooniste kohta. Kujutatud on nende emaste munetid, kelle munadest kasvatati isaseid. Munetite tähistus vastab peenisvalvide omale joonisel 24.

Lisa 1 (järg)



Joonis 22. Keskmised ja basaalsed muneti ventraalse osa (*valvula I*) segmendid (*annuli*) lähivaates. A – *E. alector*. B – *E. basalis*. C – *E. longicornis*. D–E – *E. tridens*, eri isendid. Osajoonisel A toodud skaala kehtib ka teiste osajooniste kohta. Kujutatud on nende emaste munetid, kelle munadest kasvatati isaseid. Keskmiste ja basaalsete munetisegmentide jooniste paremal ülänurgas toodud numbrid tähistavad munetihammaste järjekorranumbrit loetuna muneti apikaalsest otsast. Munetisegmentide tähistus vastab munetite omale joonisel 21 ja peenisvalvide omale joonisel 24.

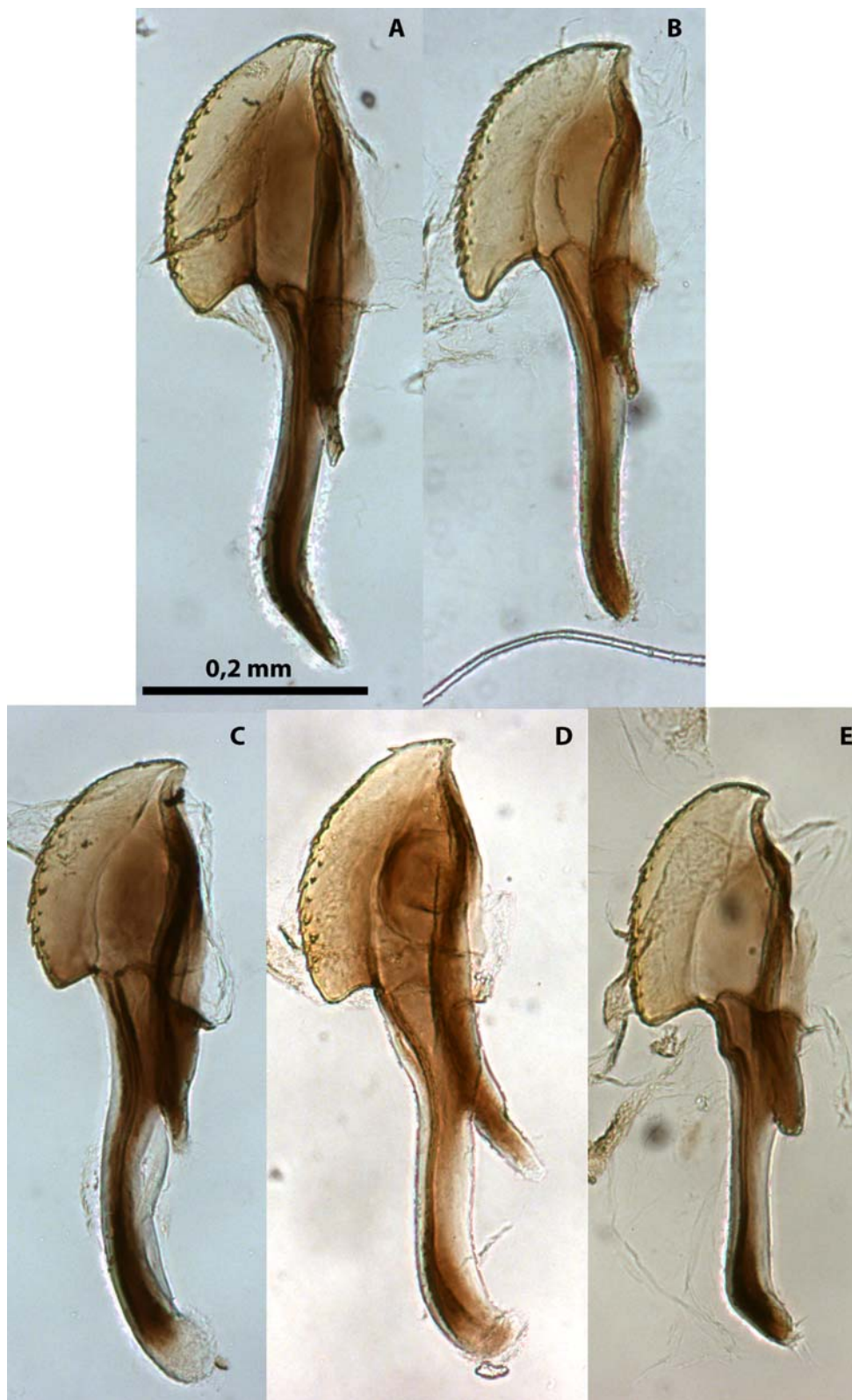
Lisa 1 (järg)



Joonis 23. Emaste munetite ventraalse osa (*valvula* 1) üldvaade. A – *E. alector*. B – *E. basalis*. C – *E. longicornis*. D–E – *E. tridens*? F – *E. tridens*. Osajoonisel A toodud skaala kehtib ka teiste osajooniste kohta.



Lisa 1 (järg)



Joonis 24. *Ex ovo* kasvatatud isaste penisvalvid (vasakpoolne, siseküljelt). A – *E. alector*. B – *E. basalis*. C – *E. longicornis*. D–E – *E. tridens*, eri emaste järglased. Osajoonisel A toodud skaala kehtib ka teiste osajooniste kohta. Penisvalvide tähistus vastab munetite omale joonisel 21.

Lisa 1 (järg)



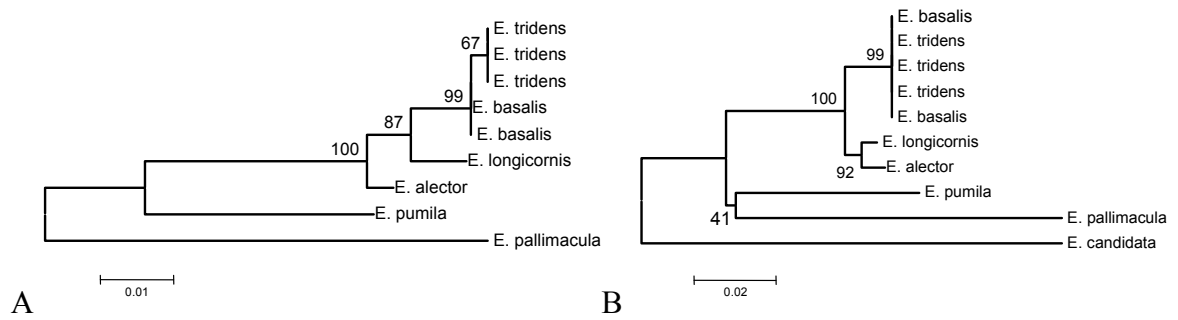
Joonis 25. Näiteid erinevatest *Empria longicornis* liigirühma isaste penisvalvidest (pole *ex ovo* kasvatud). A–B – *E. alector*. C – *E. basalis*. D – *E. longicornis*. E–G – *E. tridens*. Osajoonisel A toodud skaala kehtib ka teiste osajooniste kohta.

Lisa 1 (järg)

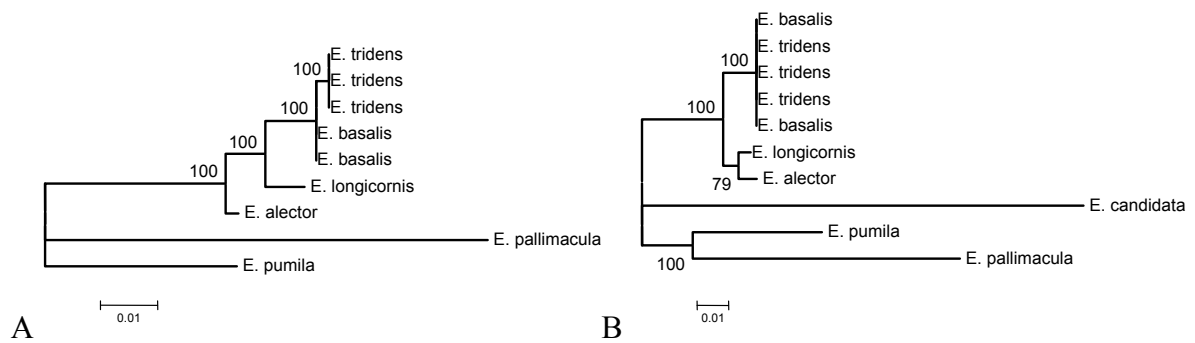


Joonis 26. Näiteid erinevatest *Empria longicornis* liigirühma isaste penisvalvidest (pole *ex ovo* kasvatud). A – *E. alector*? B – *E. basalis*. C – *E. longicornis*? D – *E. tridens*? E–F – *E. tridens*. Osajoonisel A toodud skaala kehtib ka teiste osajooniste kohta.

## Lisa 2. Fülogeneetiliste analüüside kladogrammide

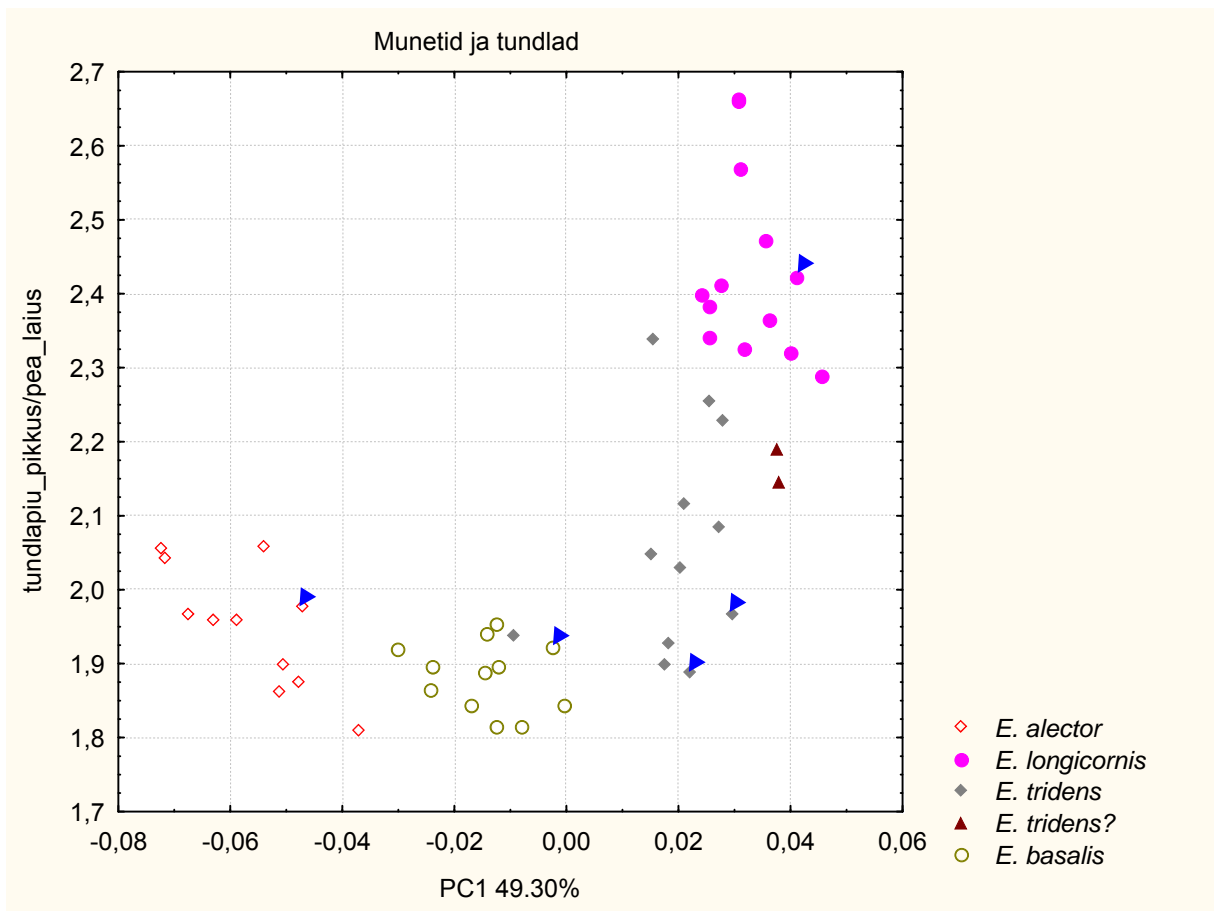


Joonis 27. COI (A) ja COII (B) geenifragmentide põhjal eraldi rekonstrueeritud NJ puud. Harude juures on näidatud *bootstrap* toetused protsentides (1000 pseudoreplikaati).



Joonis 28. COI (A) ja COII (B) geenifragmentide põhjal eraldi rekonstrueeritud ML puud. Harude juures on näidatud *quartet puzzling* toetused protsentides.

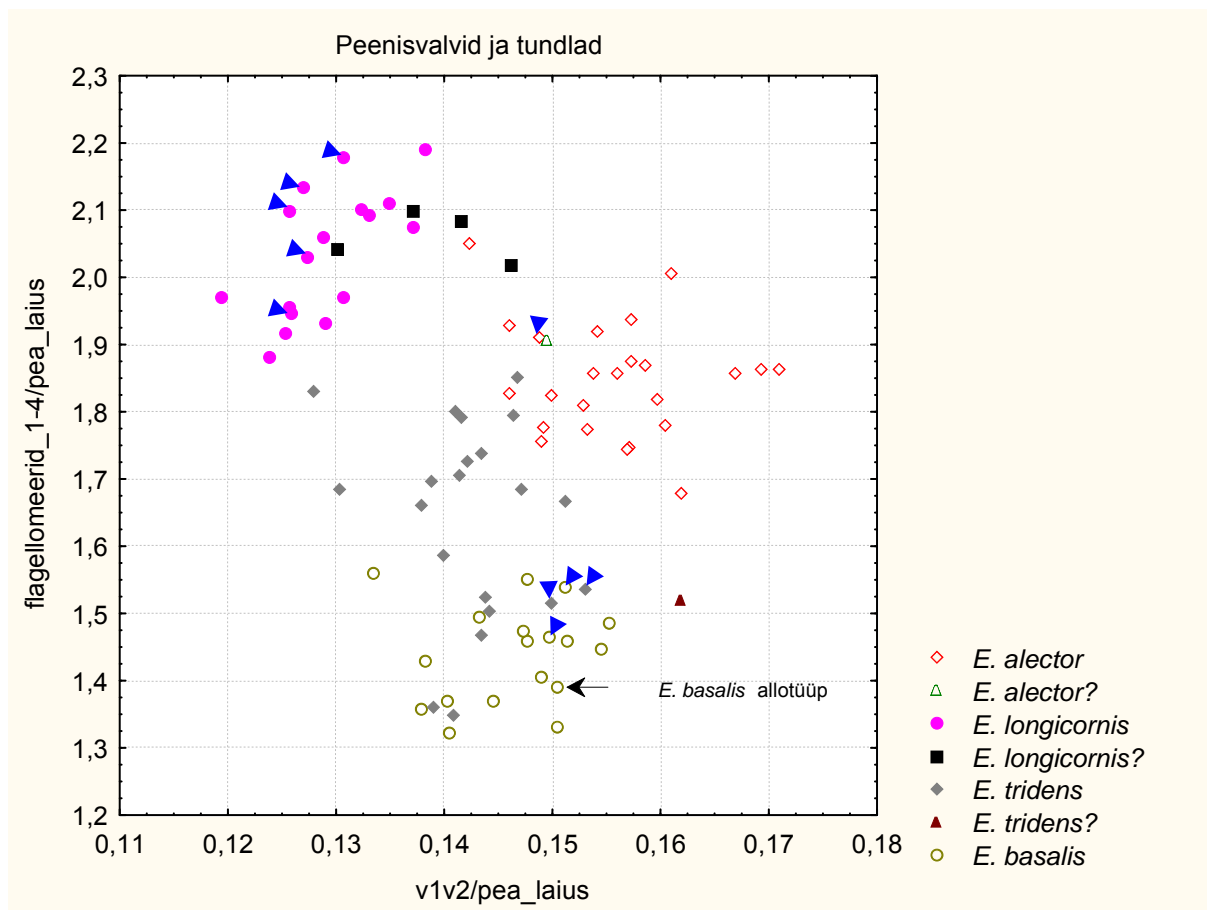
### Lisa 3. Hajuvusdiagrammid



Joonis 29. Munetite ja tundlate morfomeetria. Toodud on geomeetrilise morfomeetria analüüsi esimene peakomponent ja tundlapiu suhteline pikkus. Noolteotstega on tähistatud emased, kelle munadest õnnestus kasvatada isaseid.

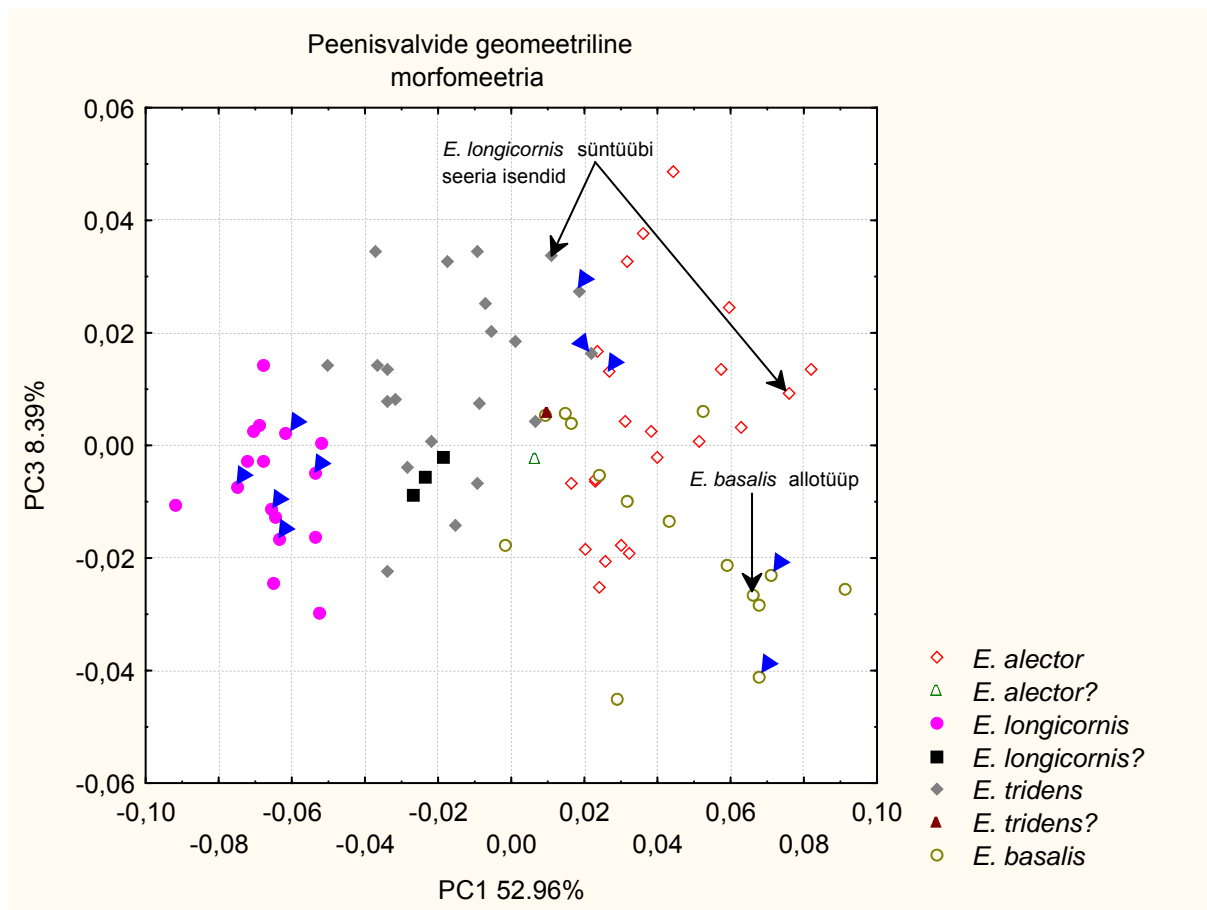


Lisa 3 (järg)



Joonis 31. Peenisvalvide ja tundlate morfomeetria. Toodud on valvitsepsi ja tundlate suhteline pikkus. Noolteotstega on tähistatud *ex ovo* kasvatatud isendid.

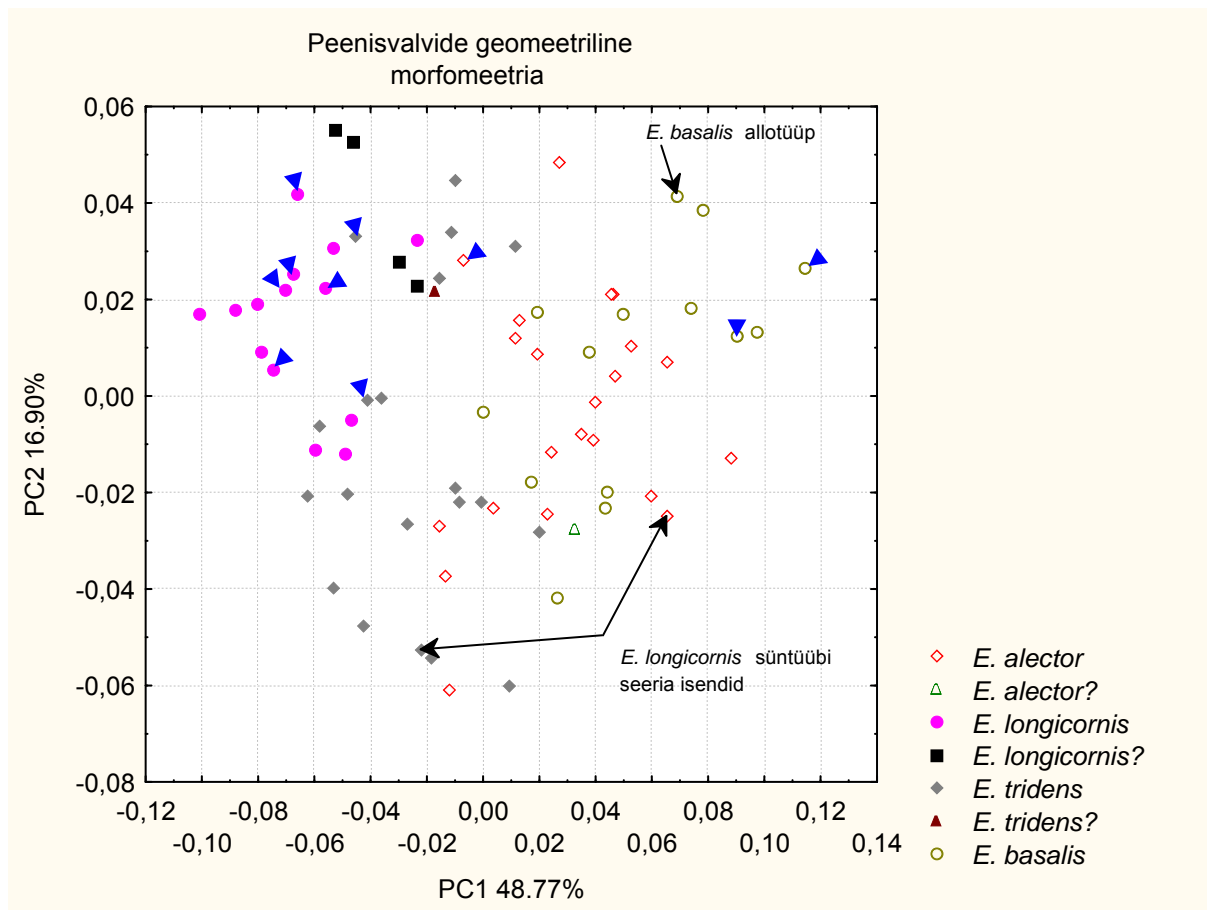
### Lisa 3 (järg)



Joonis 32. Peenisvalvide geomeetrilise morfomeetria analüüsi tulemused (9 võrdluspunkti). Toodud on esimene (x-telg) ja kolmas peakomponent (y-telg). Noolteotstega on tähistatud *ex ovo* kasvatatud isendid.



Lisa 3 (järg)



Joonis 33. Peenisvalvide geomeetrilise morfomeetria analüüsi tulemused (8 võrdluspunkti). Toodud on esimene (x-telg) ja teine peakomponent (y-telg).

#### Lisa 4. Morfomeetriliste mõõtmiste ja analüüside andmed

Tabel 9. Emastel mõõdetud tunnused ja geomeetrilise morfomeetria analüüsi peakomponendid. Materjal on pärit järgmistest kollektsioonidest: MZLU – Museum of Zoology, Lund; ZMUC – Zoological Museum of University of Copenhagen, Kopenhaagen; FMNH – Finnish Museum of Natural History, Helsinki; MH – Mikk Heidemaa (TÜ ZHI) erakollektsioon; autor – autori erakollektsioon. Liikide tähistus: al – *E. alector*, bas – *E. basalis*, long – *E. longicornis*, trid – *E. tridens*.

isend	kollektsioon	liik	märkus	Pea laius (mm)	POL (mm)	Flagellomeer 7		Flagellomeer 6		Flagellomeer 5		Flagellomeer		Flagellomeer 3 (mm)		Flagellomeer 2 (mm)		Flagellomeer 1 (mm)		25 võrdluspunkti		
						pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	PC1 49.30%
04-16a	autor	trid		1.53	0.258	0.432	0.114	0.398	0.127	0.423	0.144	0.449	0.157	0.542	0.165	0.559	0.169	0.601	0.165	2.80E-02	4.76E-03	-2.57E-02
04-23a	autor	trid		1.62	0.275	0.407	0.119	0.390	0.136	0.398	0.152	0.449	0.152	0.525	0.161	0.563	0.169	0.584	0.169	1.49E-02	-6.77E-03	2.01E-02
04-27a	autor	bas		1.62	0.258	0.407	0.114	0.364	0.127	0.373	0.144	0.398	0.144	0.483	0.161	0.491	0.161	0.551	0.165			
04-31a	autor	al		1.62	0.301	0.390	0.110	0.373	0.123	0.407	0.140	0.432	0.148	0.525	0.152	0.517	0.152	0.542	0.157	-6.74E-02	2.44E-02	3.02E-02
04-32a	autor	bas		1.73	0.279	0.415	0.114	0.381	0.127	0.390	0.148	0.415	0.157	0.500	0.169	0.508	0.174	0.576	0.174	-1.70E-02	-4.12E-02	-2.06E-02
05-02b	autor	bas	ex larva	1.56	0.279	0.419	0.114	0.339	0.123	0.356	0.140	0.398	0.148	0.466	0.161	0.491	0.165	0.508	0.161			
05-14a	autor	bas		1.55	0.267	0.381	0.119	0.339	0.136	0.364	0.148	0.373	0.161	0.466	0.174	0.474	0.174	0.487	0.165	-2.45E-02	-3.65E-02	-1.77E-02
05-14a 01	autor	bas	ex ovo	1.62		0.432	0.119	0.373	0.136	0.373	0.152	0.415	0.157	0.500	0.165	0.500	0.169	0.551	0.165	-1.43E-02	-1.95E-02	4.27E-03
05-14a 02	autor	bas	ex ovo	1.64	0.279	0.423	0.119	0.347	0.140	0.356	0.152	0.407	0.161	0.466	0.169	0.491	0.178	0.500	0.169			
05-15a	autor	long		1.53	0.233	0.487	0.102	0.474	0.127	0.483	0.136	0.551	0.144	0.644	0.152	0.627	0.161	0.661	0.152	3.10E-02	-1.02E-02	3.97E-05
05-21a	autor	long	ex ovo	1.55	0.246	0.466	0.102	0.449	0.123	0.449	0.136	0.508	0.144	0.551	0.157	0.559	0.161	0.606	0.161	4.00E-02	8.20E-03	-2.21E-03
05-36a	autor	al		1.56	0.254	0.381	0.114	0.347	0.131	0.373	0.131	0.398	0.136	0.491	0.144	0.491	0.152	0.525	0.157			
06-01c	autor	long	ex larva	1.56	0.254					0.474	0.144	0.542	0.152	0.661	0.157	0.661	0.169	0.711	0.165	3.24E-02	1.50E-02	-2.99E-03
06-03a	autor	bas		1.45	0.275	0.364	0.114	0.322	0.131	0.330	0.136	0.381	0.152	0.449	0.152	0.466	0.161	0.483	0.157	-2.68E-03	-1.79E-02	-5.27E-03
06-03b	autor	bas	ex larva	1.60	0.263	0.381	0.119	0.339	0.127	0.347	0.140	0.381	0.148	0.466	0.157	0.474	0.161	0.517	0.161	-1.25E-02	-1.86E-02	-7.22E-03
06-05a	autor	trid		1.71	0.292	0.445	0.127	0.398	0.127	0.394	0.144	0.457	0.157	0.525	0.161	0.542	0.165	0.601	0.165	2.94E-02	1.95E-02	-4.02E-02
06-05a ii 01	autor	trid	ex ovo	1.42	0.224	0.356	0.097	0.305	0.114	0.322	0.127	0.356	0.144	0.432	0.148	0.432	0.157	0.457	0.152			
06-05a ii 02	autor	trid	ex ovo	1.57	0.271	0.415	0.114	0.330	0.131	0.356	0.144	0.419	0.152	0.483	0.152	0.483	0.161	0.500	0.165	1.76E-02	1.97E-02	-2.04E-02
06-06a	autor	trid		1.73	0.301	0.415	0.110	0.381	0.136	0.398	0.161	0.440	0.169	0.525	0.174	0.542	0.182	0.559	0.178	2.20E-02	1.44E-02	1.58E-03
06-07a	autor			1.47	0.237	0.432	0.110	0.373	0.127	0.398	0.148	0.432	0.148	0.508	0.161	0.500	0.165	0.517	0.174	3.77E-02	2.61E-02	3.32E-03
06-11a	autor	bas		1.56	0.246	0.398	0.119	0.356	0.127	0.356	0.144	0.398	0.161	0.466	0.161	0.483	0.165	0.508	0.161	-1.23E-02	-4.30E-02	-6.65E-05
06-13a	autor	bas		1.62	0.258	0.407	0.127	0.356	0.140	0.356	0.152	0.381	0.161	0.449	0.169	0.474	0.178	0.517	0.182	-8.18E-03	-2.24E-02	3.24E-03
06-15a	autor	long		1.60	0.250	0.491	0.110	0.474	0.127	0.474	0.144	0.525	0.157	0.635	0.157	0.614	0.169	0.644	0.161	2.76E-02	-5.95E-03	1.33E-02
06-15a ii	autor	long	ex ovo	1.61	0.250	0.449	0.106	0.457	0.123	0.457	0.140	0.525	0.144	0.618	0.157	0.610	0.165	0.627	0.174	3.16E-02	2.23E-03	1.50E-02
06-16a	autor	al		1.45	0.250	0.364	0.102	0.330	0.110	0.364	0.123	0.385	0.127	0.466	0.136	0.474	0.144	0.466	0.144	-5.88E-02	9.55E-03	7.32E-03
06-19a	autor	long		1.53		0.474	0.110	0.449	0.131	0.466	0.140	0.525	0.148	0.593	0.157	0.593	0.165	0.601	0.169	4.11E-02	3.04E-03	1.85E-02
06-19a ii	autor	long	ex ovo	1.59	0.258	0.474	0.110	0.466	0.127	0.449	0.140	0.517	0.148	0.584	0.157	0.593	0.169	0.644	0.174	2.54E-02	2.49E-03	1.33E-02

Lisa 4 (järg)

Tabel 9 (järg)

06-20a	autor	trid		1.41	0.241	0.449	0.123	0.390	0.127	0.407	0.140	0.457	0.148	0.525	0.152	0.525	0.157	0.542	0.157	1.54E-02	1.21E-02	-4.86E-03
06-24a	autor	al		1.67	0.279	0.453	0.106	0.398	0.123	0.398	0.140	0.440	0.152	0.534	0.157	0.525	0.161	0.559	0.161	-4.73E-02	1.00E-02	1.42E-02
06-28a	autor			1.62	0.250	0.373	0.110	0.339	0.123	0.364	0.131	0.390	0.136	0.457	0.148	0.474	0.161	0.534	0.161	-3.73E-02	-1.08E-02	1.11E-02
362	MZLU	long	syntyus	1.44	0.237	0.466	0.102	0.457	0.110	0.474	0.131	0.517	0.140	0.635	0.148	0.635	0.157	0.635	0.161			
369-01	MZLU	long		1.57	0.267	0.534	0.102	0.500	0.114	0.534	0.131	0.576	0.144	0.678	0.152	0.686	0.161	0.678	0.157	3.05E-02	5.04E-04	1.29E-02
369-04	MZLU	long		1.33	0.229	0.436	0.110	0.423	0.123	0.440	0.131	0.483	0.140	0.584	0.148	0.584	0.152	0.584	0.148	3.07E-02	1.07E-02	-7.78E-04
370-06	MZLU	al		1.50	0.267	0.407	0.110	0.364	0.114	0.381	0.119	0.423	0.131	0.491	0.140	0.500	0.152	0.500	0.148	-7.17E-02	1.81E-02	1.12E-02
370-13	MZLU	trid		1.55	0.258	0.445	0.123	0.407	0.136	0.415	0.144	0.483	0.148	0.567	0.161	0.567	0.161	0.601	0.169	2.54E-02	9.49E-03	1.19E-02
371-12	MZLU	al		1.51	0.258	0.411	0.106	0.381	0.110	0.385	0.123	0.423	0.127	0.500	0.136	0.500	0.140	0.504	0.144	-7.24E-02	3.13E-02	-3.84E-03
372-01	MZLU	bas		1.52	0.246	0.360	0.102	0.347	0.119	0.356	0.127	0.390	0.140	0.457	0.144	0.466	0.152	0.491	0.161	-1.46E-02	-2.19E-02	-3.06E-02
372-05	MZLU	bas		1.47	0.258	0.373	0.114	0.339	0.140	0.356	0.140	0.364	0.152	0.440	0.161	0.466	0.165	0.491	0.165	-3.01E-02	-3.14E-02	3.42E-02
372-09	MZLU	bas		1.54	0.246	0.402	0.110	0.347	0.127	0.364	0.136	0.398	0.148	0.483	0.157	0.483	0.165	0.525	0.161	-1.26E-02	-1.69E-02	-1.64E-02
h-01a	MH	long		1.65	0.250	0.483	0.119	0.449	0.136	0.483	0.136	0.508	0.152	0.601	0.161	0.618	0.174	0.644	0.169	4.55E-02	-1.95E-02	1.97E-02
h-02a	MH			1.53	0.258	0.356	0.106	0.339	0.119	0.356	0.129	0.411	0.131	0.474	0.144	0.500	0.152	0.525	0.152	-9.37E-03	-1.36E-02	2.47E-03
h-03a	MH	long		1.60	0.254	0.491	0.127	0.449	0.136	0.466	0.148	0.525	0.161	0.610	0.174	0.610	0.174	0.635	0.169	3.63E-02	6.24E-03	-5.47E-04
h-04a	MH	long		1.59	0.258	0.466	0.110	0.445	0.131	0.466	0.148	0.500	0.161	0.618	0.169	0.635	0.178	0.661	0.169	2.53E-02	6.51E-04	4.02E-04
h-05a	MH	trid		1.53	0.254	0.436	0.119	0.364	0.131	0.398	0.140	0.449	0.148	0.525	0.157	0.525	0.165	0.534	0.165	2.08E-02	-6.58E-03	1.02E-02
h-06a	MH	bas		1.55	0.267	0.390	0.119	0.330	0.144	0.364	0.152	0.390	0.161	0.483	0.169	0.483	0.169	0.491	0.161	-2.40E-02	-3.38E-02	-1.22E-02
h-07a	MH	bas		1.68	0.263	0.390	0.131	0.364	0.148	0.390	0.161	0.415	0.165	0.491	0.178	0.500	0.186	0.551	0.178	-5.34E-04	-2.83E-02	4.93E-03
h-10a	MH	al		1.57	0.233	0.390	0.114	0.364	0.119	0.381	0.140	0.407	0.144	0.500	0.152	0.508	0.161	0.534	0.161	-6.30E-02	2.66E-02	-1.53E-02
h-11a	MH	al		1.51	0.246	0.398	0.110	0.381	0.114	0.398	0.127	0.440	0.136	0.508	0.144	0.483	0.157	0.500	0.152	-5.41E-02	1.86E-02	1.17E-02
h-12a	MH	al		1.42	0.233	0.347	0.097	0.313	0.119	0.322	0.127	0.381	0.131	0.449	0.136	0.440	0.144	0.440	0.144	-5.06E-02	1.50E-02	-8.09E-03
h-13a	MH	al		1.53	0.267	0.364	0.102	0.339	0.119	0.356	0.131	0.390	0.140	0.466	0.148	0.449	0.152	0.483	0.157	-5.11E-02	2.77E-02	-1.45E-02
h-16a	MH	trid		1.55	0.263	0.415	0.110	0.356	0.123	0.373	0.140	0.415	0.152	0.466	0.161	0.466	0.169	0.491	0.165	1.83E-02	1.40E-02	-2.64E-02
h-17a	MH	trid		1.52	0.254	0.390	0.110	0.347	0.131	0.398	0.136	0.432	0.144	0.500	0.152	0.500	0.161	0.517	0.169	2.01E-02	2.10E-02	-2.81E-02
h-18a	MH	trid																		1.63E-02	3.87E-02	2.61E-02
h-20a	MH	al		1.49	0.246	0.330	0.093	0.313	0.114	0.347	0.123	0.381	0.131	0.466	0.144	0.474	0.152	0.483	0.157	-4.79E-02	1.44E-02	4.69E-03
h-21a	MH	trid		1.47	0.254	0.394	0.106	0.347	0.119	0.381	0.136	0.432	0.148	0.491	0.157	0.491	0.161	0.534	0.165	2.73E-02	1.88E-02	-4.32E-03
h-22a	MH			1.51	0.258	0.398	0.114	0.381	0.140	0.440	0.161	0.440	0.169	0.542	0.178	0.559	0.174	0.542	0.169	3.74E-02	1.39E-03	-2.24E-03
h-23a	MH	long		1.61	0.263	0.491	0.119	0.449	0.136	0.474	0.148	0.542	0.165	0.635	0.174	0.635	0.182	0.635	0.186	2.40E-02	-3.02E-03	-3.57E-03
h-24a	MH	long		1.50	0.233	0.466	0.102	0.432	0.119	0.474	0.136	0.517	0.144	0.610	0.152	0.610	0.161	0.601	0.161	3.56E-02	-2.83E-03	3.49E-03

## Lisa 4 (järg)

Tabel 10. Isastel mõõdetud tunnused ja geomeetrilise morfomeetria analüüside peakomponendid. Materjal on pärit järgmistest kollektsioonidest: MZLU – Museum of Zoology, Lund; ZMUC – Zoological Museum of University of Copenhagen, Kopenhaagen; FMNH – Finnish Museum of Natural History, Helsinki; MH – Mikk Heidemaa (TÜ ZHI) erakollektsioon; autor – autori erakollektsioon. Liikide tähistus: al – *E. alector*, bas – *E. basalis*, long – *E. longicornis*, trid – *E. tridens*.

isend	kollektsioon	liik	märkus	Pea laius (mm)	POL (mm)	Flagellomeer 7		Flagellomeer 6		Flagellomeer 5		Flagellomeer 4		Flagellomeer 3		Flagellomeer 2		Flagellomeer 1		Peenisvalvide lineaarmõõdud			
						pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	v1v2 (mm)	v2v3 (mm)
04_05-04	autor	trid		1.36	0.233	0.432	0.127	0.407	0.152	0.407	0.165	0.440	0.178	0.491	0.195	0.483	0.208	0.423	0.212	0.192	0.321	0.508	0.598
04_05-11	autor	bas		1.36	0.237	0.440	0.114	0.407	0.131	0.407	0.157	0.449	0.161	0.517	0.178	0.538	0.186	0.508	0.208	0.201	0.333	0.526	0.604
04-41	autor	long?		1.44	0.229							0.728	0.195	0.796	0.216	0.796	0.224	0.694	0.237	0.197	0.353	0.545	0.559
04-43	autor	bas		1.47	0.237	0.440	0.123	0.407	0.152	0.440	0.169	0.466		0.508		0.508	0.208	0.517	0.220	0.203	0.359	0.556	0.565
04-44	autor	long		1.38	0.224	0.593	0.123	0.618	0.152	0.652	0.174	0.694		0.762		0.754	0.220	0.703	0.237	0.187	0.356	0.541	0.524
04-45	autor	long		1.36	0.216	0.580	0.127	0.601	0.148	0.618	0.178	0.686		0.762		0.737	0.208	0.644	0.212	0.187	0.352	0.536	0.531
04-46	autor	al		1.45	0.250	0.627	0.136	0.584	0.152	0.576	0.182	0.644	0.195	0.754	0.220	0.711	0.220	0.694	0.229	0.213	0.36	0.567	0.590
04-49	autor	long		1.47	0.233	0.618	0.125	0.601	0.152	0.652	0.174	0.686		0.762		0.745	0.220	0.686	0.229	0.185	0.367	0.552	0.504
04-50	autor	long		1.49	0.237	0.610	0.136	0.631	0.165	0.652	0.199	0.686	0.216	0.771	0.237	0.737		0.686		0.193	0.362	0.552	0.532
05-21	autor	bas		1.30	0.216	0.432	0.114	0.381	0.136	0.390	0.152	0.440	0.152	0.483	0.174	0.500	0.186	0.474	0.195	0.192	0.307	0.492	0.626
05-22	autor	trid		1.33	0.229	0.517	0.140	0.491	0.144	0.508	0.161	0.542	0.178	0.576	0.195	0.567	0.208	0.551	0.220	0.173	0.338	0.505	0.512
05-23	autor	trid		1.42	0.220	0.534	0.127	0.508	0.144	0.517	0.165	0.610	0.186	0.644	0.203	0.635	0.216	0.576	0.229	0.204	0.323	0.524	0.630
05-24	autor	trid		1.36	0.263			0.398	0.144	0.432	0.148	0.483	0.165	0.525	0.178	0.538	0.186	0.534	0.195	0.196	0.357	0.547	0.546
05-25	autor	trid		1.32	0.220	0.534	0.119	0.487	0.131	0.508	0.157	0.576	0.161	0.567	0.178	0.551	0.199	0.542	0.208	0.183	0.347	0.526	0.527
05-26	autor	bas		1.40	0.233	0.487	0.136	0.440	0.157	0.453	0.182	0.491	0.195	0.534	0.212	0.534	0.233	0.534	0.229	0.201	0.372	0.567	0.540
05-27	autor	trid		1.35	0.258	0.440	0.127	0.436	0.136	0.440	0.152	0.500	0.165	0.584	0.186	0.576	0.199	0.584	0.203	0.204	0.364	0.565	0.559
05-29	autor	trid		1.38	0.224	0.534	0.131	0.517	0.152	0.534	0.161	0.593	0.169	0.661	0.186	0.644	0.203	0.593	0.212	0.195	0.358	0.549	0.545
06-01c 01	autor	long	ex ovo	1.43	0.220	0.678	0.127	0.661	0.152	0.678	0.182	0.745	0.203	0.796	0.229	0.805	0.237	0.762	0.246	0.187	0.379	0.557	0.492
06-01c 02	autor	long	ex ovo	1.45	0.229			0.618	0.178	0.635	0.186	0.711	0.220	0.796	0.246	0.796	0.250	0.728	0.254	0.182	0.378	0.553	0.481
06-03a 01	autor	bas	ex ovo	1.26	0.254	0.407	0.123	0.373	0.148	0.407	0.161	0.449	0.186	0.474	0.203	0.508	0.212	0.512	0.220	0.191	0.332	0.511	0.576
06-03a 02	autor	bas	ex ovo	1.34	0.263	0.419	0.123	0.390	0.136	0.398	0.157	0.432	0.165	0.491	0.178	0.517	0.186	0.517	0.195	0.2	0.334	0.527	0.599
06-04	autor	bas		1.32	0.208	0.415	0.119	0.381	0.127	0.385	0.148	0.423	0.161	0.466	0.174	0.457	0.186	0.457	0.199	0.191	0.32	0.51	0.596
06-05	autor	trid		1.35	0.229	0.512	0.110	0.508	0.127	0.508	0.144	0.567	0.161	0.635	0.174	0.635	0.178	0.627	0.195	0.172	0.317	0.483	0.543
06-05a	autor	trid	ex ovo	1.37	0.258	0.474	0.136	0.440	0.152	0.432	0.161	0.466	0.165	0.542	0.182	0.542	0.195	0.559	0.203	0.21	0.346	0.544	0.607
06-06a	autor	trid	ex ovo	1.32	0.258	0.457	0.123	0.415	0.144	0.436	0.165	0.457	0.182	0.525	0.199	0.517	0.212	0.500	0.220	0.198	0.311	0.502	0.635
06-11	autor	al		1.25	0.220	0.508	0.110	0.466	0.144	0.474	0.161	0.525	0.169	0.567	0.186	0.559	0.191	0.542	0.203	0.197	0.314	0.504	0.627
06-14	autor	long		1.25	0.208	0.508	0.106	0.567	0.136	0.584	0.152	0.661		0.703		0.669	0.199	0.601	0.203	0.166	0.343	0.505	0.485
06-15	autor	bas		1.35	0.241	0.432	0.119	0.390	0.140	0.398	0.157	0.423		0.491		0.491	0.195	0.517	0.195	0.186	0.312	0.484	0.596
06-18	autor	al		1.44	0.241	0.567	0.144	0.534	0.152	0.551	0.182	0.610		0.669		0.635	0.212	0.610	0.220	0.214	0.349	0.553	0.613
06-19	autor	trid		1.29	0.220	0.491	0.110	0.466	0.127	0.500	0.148	0.525	0.165	0.576	0.174	0.559	0.191	0.542	0.203	0.183	0.343	0.52	0.539
06-19a 01	autor	long	ex ovo	1.47	0.258	0.678	0.136	0.661	0.161	0.661	0.178	0.720	0.203	0.779	0.233	0.771	0.237	0.720	0.246	0.188	0.378	0.562	0.496
06-19a 02	autor	long	ex ovo	1.45	0.254	0.601	0.131	0.593	0.148	0.618	0.178	0.678	0.195	0.728	0.220	0.737	0.237	0.686	0.246	0.183	0.387	0.563	0.473
06-19a 05	autor	long	ex ovo	1.50	0.246	0.678	0.148	0.678	0.174	0.703	0.199	0.771	0.229	0.805	0.246	0.830	0.254	0.796	0.271	0.191	0.369	0.556	0.516

Lisa 4 (järg)

Tabel 10 (järg)

isend	kollektsioon	liik	märkus	Pea laius (mm)	POL (mm)	Flagellomeer 7		Flagellomeer 6		Flagellomeer 5		Flagellomeer 4		Flagellomeer 3		Flagellomeer 2		Flagellomeer 1		Peenisvalvide lineaarmõõdud			
						pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	v1v2 (mm)	v2v3 (mm)
06-23	autor	al		1.31	0.220	0.618	0.148	0.584	0.161	0.627	0.165	0.635		0.737		0.669	0.212	0.661	0.208		0.238	0.374	0.588
06-24a	autor	al	ex ovo	1.47	0.263	0.618	0.144	0.610	0.161	0.610	0.178	0.661	0.208	0.728	0.229	0.728	0.237	0.694	0.237	0.219	0.348	0.555	0.629
06-25	autor	al		1.30	0.220	0.559	0.127	0.525	0.152	0.534	0.169	0.593	0.186	0.627	0.203	0.618	0.203	0.601	0.195	0.205	0.339	0.535	0.603
06-27	autor	bas		1.22	0.208	0.381	0.119	0.339	0.136	0.364	0.152	0.381		0.423		0.457	0.178	0.449	0.186	0.182	0.322	0.497	0.553
06-32	autor	trid		1.37	0.229	0.407	0.123	0.415	0.148	0.440	0.157	0.474	0.165	0.517	0.178	0.517	0.186	0.508	0.199	0.197	0.333	0.527	0.592
363 D1	MZLU	trid	syntypus	1.37	0.212	0.534	0.114	0.500	0.148	0.542	0.169	0.576	0.178	0.652	0.199	0.635	0.203	0.610	0.212				0.588
368 C1	MZLU	al	syntypus	1.35	0.220	0.542	0.125	0.517	0.141	0.525	0.165	0.593	0.174	0.661	0.203	0.644	0.212	0.576	0.212				0.696
369-08	MZLU	long?		1.35	0.220	0.610	0.110	0.610	0.144	0.627	0.169	0.678	0.191	0.728	0.208	0.711	0.220	0.686	0.224	0.191	0.317	0.502	0.587
369-09	MZLU	long		1.35	0.224	0.652	0.110	0.652	0.144	0.669	0.157	0.728	0.178	0.779	0.212	0.711	0.216	0.669	0.233	0.186	0.348	0.531	0.535
369-14	MZLU	al		1.37	0.250	0.601	0.127	0.593	0.148	0.618	0.165	0.652	0.191	0.745	0.216	0.711	0.224	0.644	0.229	0.221	0.301	0.513	0.735
369-15	MZLU	long		1.44	0.246	0.618	0.125	0.610	0.140	0.601	0.169	0.694	0.191	0.762	0.208	0.762	0.216	0.737	0.237	0.185	0.351	0.535	0.527
370-02	MZLU	trid		1.35	0.237	0.529	0.119	0.517	0.140	0.551	0.148	0.593	0.169	0.661	0.186	0.635	0.203	0.601	0.212	0.198	0.334	0.527	0.592
370-12	MZLU	trid		1.30	0.208					0.491	0.144	0.559	0.157	0.610	0.174	0.593	0.186	0.567	0.191	0.184	0.334	0.509	0.552
370-14	MZLU	bas		1.39	0.233	0.483	0.127	0.483	0.144	0.432	0.157	0.500	0.169	0.576	0.182	0.559	0.191	0.534	0.199	0.186	0.326	0.51	0.570
370-15	MZLU	al		1.39	0.254	0.606	0.123	0.593	0.136	0.593	0.157	0.635	0.174	0.728	0.182	0.711	0.186	0.644	0.199				
371-03	MZLU	long?		1.25	0.199	0.551	0.114	0.576	0.136	0.601	0.165	0.627	0.182	0.661	0.199	0.644	0.208	0.601	0.212	0.184	0.322	0.503	0.568
371-09	MZLU	trid		1.42	0.237	0.500	0.127	0.483	0.140	0.491	0.152	0.559	0.174	0.618	0.195	0.610	0.203	0.567	0.224	0.196	0.349	0.538	0.561
371-14	MZLU	al		1.34	0.241	0.559	0.127	0.559	0.148	0.567	0.174	0.618	0.182	0.703	0.203	0.644	0.216	0.601	0.216	0.206	0.325	0.523	0.634
371-15	MZLU	trid		1.37	0.254	0.500	0.119	0.483	0.136	0.491	0.152	0.559	0.165	0.627	0.182	0.618	0.195	0.567	0.208	0.195	0.341	0.533	0.573
372-07	MZLU	trid		1.20	0.203	0.415	0.103	0.381	0.127	0.402	0.144	0.474	0.161	0.483	0.169	0.466	0.186	0.483	0.191	0.168	0.3	0.461	0.561
DK 32-41	ZMUC	trid		1.37	0.237	0.555	0.119	0.508	0.136	0.525	0.165	0.584	0.186	0.652	0.208	0.627	0.212	0.601	0.216	0.201	0.371	0.566	0.543
H 2337	FMNH	bas	allotypus	1.35	0.246	0.381	0.127	0.373	0.144	0.381	0.161	0.432	0.165	0.474	0.178	0.500	0.186	0.466	0.199	0.203	0.318	0.515	0.632
H 2338	FMNH	bas		1.28	0.237	0.390	0.119	0.356	0.131	0.381	0.144	0.415	0.144	0.466	0.161	0.491	0.169	0.500	0.178	0.194	0.354	0.545	0.548
H 2342	FMNH	bas		1.45	0.246	0.440	0.136	0.398	0.152	0.407	0.169	0.440	0.174	0.525	0.186	0.525	0.195	0.500	0.212	0.204	0.354	0.556	0.576
H 2345	FMNH	bas		1.35	0.229	0.423	0.114	0.398	0.127	0.423	0.152	0.474	0.169	0.517	0.186	0.525	0.195	0.483	0.203	0.209	0.354	0.558	0.590
H 2346	FMNH	trid		1.45	0.246	0.466	0.131	0.398	0.131	0.398	0.152	0.440	0.165	0.500	0.186	0.500	0.195	0.525	0.203	0.201	0.353	0.548	0.569
H 2350	FMNH	trid		1.45	0.271							0.525	0.182	0.551	0.195	0.559	0.212	0.551	0.224	0.21	0.369	0.57	0.569
H 2351	FMNH	al		1.33	0.254	0.534	0.114	0.500	0.131	0.517	0.152	0.525	0.161	0.593	0.186	0.567	0.199	0.542	0.208	0.215	0.341	0.552	0.631
H 2354	FMNH	al		1.35	0.241	0.457	0.119	0.457	0.131	0.491	0.148	0.551	0.161	0.601	0.191	0.601	0.208	0.610	0.212	0.213	0.349	0.544	0.609
H 2355	FMNH	long		1.49	0.233	0.601	0.144	0.593	0.169	0.618	0.182	0.703	0.212	0.762	0.229	0.771	0.237	0.703	0.254	0.178	0.39	0.568	0.456
H 2358	FMNH	trid?		1.42	0.288	0.432	0.125	0.432	0.140	0.466	0.161	0.500	0.178	0.534	0.186	0.559	0.212	0.559	0.224	0.23	0.341	0.57	0.674
H 2359	FMNH	trid		1.34	0.220	0.479	0.125	0.457	0.148	0.474	0.169	0.551	0.169	0.584	0.199	0.584	0.208	0.534	0.208	0.197	0.355	0.51	0.554
H 2367	FMNH	bas		1.39	0.224	0.440	0.127	0.407	0.131	0.415	0.148	0.483	0.165	0.534	0.191	0.534	0.203	0.525	0.208				

Lisa 4 (järg)

Tabel 10 (järg)

isend	kollektsioon	liik	märkus	Pea laius (mm)	POL (mm)	Flagellomeer 7		Flagellomeer 6		Flagellomeer 5		Flagellomeer 4		Flagellomeer 3		Flagellomeer 2		Flagellomeer 1		Peenisvalvide lineaarmõõdud			
						pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	pikkus	laius	v1v2 (mm)	v2v3 (mm)
h-01	MH	al		1.40	0.254	0.610	0.144	0.551	0.161	0.567	0.186	0.593	0.195	0.694	0.203	0.669	0.212	0.644	0.220	0.219	0.329	0.544	0.665
h-02	MH	bas		1.16	0.233	0.339	0.123	0.313	0.136	0.339	0.144	0.347	0.157	0.407	0.165	0.390	0.169	0.407	0.178	0.175	0.277	0.447	0.632
h-03	MH	long		1.35	0.229	0.567	0.131	0.576	0.140	0.593	0.152	0.678	0.174	0.686	0.195	0.669	0.212	0.635	0.212	0.177	0.321	0.493	0.529
h-04	MH	long		1.44	0.212	0.601	0.144	0.584	0.169	0.627	0.208	0.669	0.224	0.745	0.233	0.711	0.246	0.627	0.254	0.18	0.338	0.5	0.534
h-05	MH	al		1.28	0.220	0.517	0.136	0.542	0.144	0.525	0.161	0.610	0.174	0.686	0.199	0.627	0.208	0.559	0.203	0.202	0.27	0.468	0.746
h-06	MH	bas		1.27	0.229	0.474	0.127	0.415	0.136	0.390	0.161	0.440	0.161	0.517	0.174	0.525	0.186	0.491	0.195	0.188	0.354	0.536	0.531
h-08	MH	bas		1.41	0.233	0.449		0.373		0.381		0.415		0.483		0.491		0.474		0.198	0.346	0.536	0.572
h-09	MH	al		1.26		0.521		0.483		0.508		0.559		0.635		0.584		0.567		0.211	0.328	0.531	0.640
h-11	MH	al		1.39	0.241	0.542		0.508		0.559		0.593		0.686		0.652		0.610		0.203	0.337	0.53	0.602
h-12	MH	al		1.36	0.224	0.593	0.119	0.593	0.136	0.593	0.157	0.669	0.169	0.762	0.191	0.703	0.195	0.661	0.203	0.194	0.326	0.514	0.596
h-16	MH	long		1.36	0.233	0.601	0.127	0.610	0.144	0.610	0.178	0.694	0.199	0.762	0.224	0.728	0.220	0.669	0.229	0.182	0.349	0.527	0.521
h-17	MH	al		1.31	0.241	0.474	0.119	0.491	0.127	0.508	0.148	0.567	0.174	0.669	0.186	0.627	0.199	0.567	0.203	0.201	0.313	0.512	0.643
h-22	MH	al		1.27	0.237	0.542	0.123	0.525	0.136	0.525	0.152	0.567	0.169	0.618	0.191	0.584	0.186	0.551	0.186	0.191	0.329	0.512	0.580
h-23	MH	al		1.40	0.258	0.542	0.140	0.551	0.157	0.551	0.178	0.627	0.191	0.694	0.212	0.652	0.220	0.559	0.212	0.214	0.335	0.539	0.640
h-24	MH	al		1.30	0.237	0.491	0.119	0.483	0.136	0.525	0.152	0.534	0.169	0.661	0.199	0.593	0.216	0.576	0.216	0.208	0.337	0.54	0.617
h-25	MH	long		1.41	0.220	0.525	0.136	0.559	0.152	0.601	0.178	0.652	0.195	0.694	0.208	0.669	0.220	0.635	0.224	0.175	0.339	0.511	0.515
h-26	MH	al		1.39	0.233	0.525		0.517		0.525		0.601		0.635		0.627		0.610		0.208	0.334	0.534	0.622
h-27	MH	al?		1.42	0.229	0.551	0.131	0.551	0.148	0.567	0.165	0.661	0.182	0.728	0.199	0.678	0.203	0.635	0.212	0.212	0.383	0.583	0.554
h-28	MH	al		1.26	0.233	0.491	0.127	0.449	0.152	0.500	0.169	0.559	0.182	0.635	0.199	0.593	0.203	0.567	0.203	0.214	0.336	0.545	0.637
h-29	MH	bas		1.28	0.233	0.432	0.123	0.364	0.136	0.381	0.144	0.432	0.161	0.474	0.174	0.474	0.178	0.474	0.186	0.198	0.342	0.53	0.580
h-31	MH	long?		1.42	0.229	0.567	0.131	0.576	0.152	0.610	0.174	0.678	0.195	0.754	0.212	0.754	0.229	0.711	0.233	0.185	0.314	0.49	0.588
h-32	MH	al		1.33	0.233	0.534	0.119	0.500	0.131	0.534	0.148	0.576	0.161	0.652	0.186	0.610	0.208	0.525	0.220	0.213	0.268	0.475	0.789
h-33	MH	al		1.35	0.229	0.584	0.136	0.525	0.152	0.525	0.161	0.576	0.186	0.661	0.208	0.644	0.220	0.627	0.220	0.23	0.341	0.555	0.675
h-38	MH	al		1.41	0.229	0.508	0.127	0.508	0.152	0.542	0.165	0.601	0.174	0.678	0.212	0.635	0.216	0.584	0.208	0.216	0.354	0.563	0.610
h-39	MH	al		1.34	0.241	0.567	0.127	0.542	0.152	0.542	0.169	0.576	0.195	0.669	0.212	0.652	0.216	0.601	0.212	0.212	0.342	0.549	0.620



## Lisa 4 (järg)

Tabel 10 (järg)

isend	kollektsoon	liik	märkus	9 võrdluspunkti				8 võrdluspunkti				PC5 5.88%
				PC1 52.96%	PC2 17.27%	PC3 8.39%	PC4 6.92%	PC1 48.77%	PC2 16.90%	PC3 11.62%	PC4 9.63%	
h-01	MH	al		4.02E-02	-5.08E-02	-2.05E-03	5.87E-03	4.00E-02	-1.28E-03	-1.27E-02	3.42E-02	-1.09E-02
h-02	MH	bas										
h-03	MH	long		-5.22E-02	-4.87E-03	-2.96E-02	-2.10E-02					
h-04	MH	long										
h-05	MH	al		5.73E-02	-5.41E-02	1.36E-02	-3.03E-02	1.13E-02	1.19E-02	3.82E-02	1.02E-02	1.88E-04
h-06	MH	bas		9.32E-03	1.14E-02	5.51E-03	3.13E-02	2.64E-02	-4.20E-02	-4.21E-02	-1.62E-03	-4.70E-03
h-08	MH	bas										
h-09	MH	al		3.13E-02	-1.63E-02	4.42E-03	-6.77E-04	2.44E-02	-1.15E-02	2.55E-02	-9.83E-03	-1.15E-02
h-11	MH	al										
h-12	MH	al		2.37E-02	1.20E-02	1.67E-02	-3.58E-03	3.61E-03	-2.30E-02	2.22E-02	-1.73E-02	1.31E-02
h-16	MH	long		-5.20E-02	-2.95E-02	3.23E-04	9.85E-03	-4.70E-02	-4.83E-03	-9.07E-03	-2.71E-02	9.92E-03
h-17	MH	al		4.44E-02	-3.10E-03	4.86E-02	1.66E-03	-1.22E-02	-6.08E-02	-3.98E-03	-8.39E-03	-3.95E-03
h-22	MH	al		2.55E-02	1.73E-02	-2.04E-02	6.63E-04	4.63E-02	2.12E-02	7.34E-03	4.62E-03	1.20E-02
h-23	MH	al		3.19E-02	2.17E-05	3.25E-02	-7.72E-03	-1.58E-02	-2.71E-02	2.51E-03	-1.38E-03	7.19E-03
h-24	MH	al		2.31E-02	-2.50E-02	-6.47E-03	9.58E-03	3.95E-02	-9.01E-03	1.52E-02	1.34E-02	-2.68E-03
h-25	MH	long		-6.76E-02	-2.27E-02	1.43E-02	-7.43E-03	-1.01E-01	1.69E-02	-4.92E-02	1.10E-02	-2.65E-02
h-26	MH	al		5.13E-02	-1.58E-03	7.56E-04	-6.12E-03	4.66E-02	3.98E-03	7.55E-03	-5.59E-03	1.10E-02
h-27	MH	al?		6.60E-03	2.85E-02	-2.46E-03	1.81E-02	3.30E-02	-2.80E-02	2.33E-02	-4.99E-03	-1.11E-02
h-28	MH	al		6.31E-02	-1.51E-02	3.29E-03	1.31E-02	5.99E-02	-2.07E-02	-9.74E-03	8.52E-03	2.10E-03
h-29	MH	bas		4.30E-02	3.11E-02	-1.37E-02	-4.31E-03	5.00E-02	1.68E-02	1.11E-02	-5.91E-03	1.01E-02
h-31	MH	long?						-2.35E-02	2.27E-02	-2.33E-02	1.32E-02	3.07E-02
h-32	MH	al						8.85E-02	-1.28E-02	-5.90E-03	1.79E-02	-6.72E-03
h-33	MH	al		3.61E-02	2.53E-02	3.78E-02	-9.99E-03	-1.33E-02	-3.74E-02	1.88E-02	5.51E-02	-1.07E-03
h-38	MH	al		2.28E-02	6.44E-03	-5.90E-03	-2.22E-02	1.29E-02	1.55E-02	2.42E-02	5.91E-03	3.03E-02
h-39	MH	al										