

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND
ZOOLOOGIA OSAKOND
ENTOMOLOOGIA ÕPPETOOL

Juhan Heinma

**POPULATSIOONIDEVAHELISED ERINEVUSED
IMMUUNÖKOLOOGILISTES TUNNUSTES PUTUKATEL**

Bakalaureusetöö

Juhendaja: Hendrik Meister

Tartu 2015

Sisukord

| | |
|--|----|
| Sissejuhatus | 3 |
| 1. Putukate immuunsüsteem ja peamised mõõtmisviisid | 5 |
| 2. Elukäiguomadused, immuunfunktsioon | 6 |
| 3. Referatiivne ülevaade populatsioonidevahelistest erinevustest immunoloogilistes parameetrites..... | 7 |
| 3. 1. Liblikalised (<i>Lepidoptera</i>)..... | 7 |
| 3.2. Kahetiivalised (<i>Diptera</i>)..... | 11 |
| 3.3. Sihktiivalised (<i>Orthoptera</i>)..... | 13 |
| 3.4. Mardikalised (<i>Coleoptera</i>) | 15 |
| 3.5. Kiililised (<i>Odonata</i>)..... | 15 |
| 3.6. Kiletiivalised (<i>Hymenoptera</i>) | 17 |
| 4. Süntees populatsioonidevahelistest erinevustest immuunökoloogilistes tunnustes | 19 |
| Kokkuvõte | 22 |
| Summary..... | 23 |
| Tänuavaldused..... | 24 |
| Kasutatud kirjandus | 25 |

Sissejuhatus

Ligikaudu 18% maailma teraviljasaagist (Oerke & Dehne, 2004) ning 20% säilitatavast toidust (Bergvinson & García-Lara, 2004) hävitavad või muudavad kõlbmatuks putukad. Putukate arvukust on võimalik reguleerida, kasutades nende looduslikke vaenlasi nagu seened, bakterid ja hulkraksed parasiidid. Seetõttu on oluline teada, kuidas toimib putukate immuunsüsteem ning missugused on erinevate toiduahela tasemete omavahelised mõjutused (Rolff & Reynolds, 2009).

Kaitsmaks ennast haigust tekitavate patogeenide (bakterid, seened, viirused, algloomad ja teised parasiidid) ja nende elutegevuse käigus moodustuvate võõrvalkude ja molekulide eest, on hulkraksetel organismidel evolutsiooni käigus väljaarenenud vastupanuvõime ehk immuunsus. Üldiselt võib loomade immuunsüsteemi jaotada sünnipäraseks ja omandatavaks (Fearon, 1997). Sünnipärane immuunsus on kiiresti aktiveeruv, mittespetsiifiline kaitsemehhanism, mis tunneb ära ja hävitab sarnaste tunnustega antigeenid ehk võõrkehad iga kord samasuguse efektiivsusega. Omandatud immuunsuse korral toimuvad lümfotsüütides ehk lümfirakkudes geneetilised ümberkorraldused, mis tagavad juba kord kohatud antigeeni spetsiifilise äratundmise selle organismi sattumisel (Fearon, 1997). Varasemalt arvati, et putukatel esineb üksnes sünnipärane immuunsus (Lavine & Strand, 2002), viimasel ajal on aga üha enam leitud ka mehhanisme, mis sarnanevad omandatud immuunsusele (Sadd & Schmid-Hempel, 2006; Rolff & Reynolds, 2009). Samuti on selgunud, et putukate immuunsüsteem võib-olla väga spetsiifiline. Näiteks on avastatud, et putukad suudavad moodustada palju erinevaid antimikroobseid valke, millel igal ühel on kindel äratundmispartikkel (*PRRs-pattern-recognition receptors*) erinevate patogeenide ja nende elutegevuse käigus tekkinud võõrvalkude ära tundmiseks (Rolff & Reynolds, 2009).

Putukad on immunoloogia uurimiseks sobivad uurimisobjektid, kuna putukate laia leviku tõttu on nende immuunsüsteem kohastunud hakkama saama mitmete mikroorganismide ja parasiitidega (Frank, 2000; Suhonen *et al.*, 2010). Võrreldes teiste loomarühmadega on erinevate putukaliikidega märgatavalt lihtsam läbi viia mitmesuguseid katseid. Samuti on tõestatud esialgselt arvatust suurem sarnasus putukate ja selgroogsete immuunsüsteemide vahel (Schmid-Hempel, 2005). Mitmed putukate sünnipärase immuunsuse vastupanureaktsioonid on vägagi sarnased selgroogsete omadega, ja seega ka inimesel esinevate reaktsioonidega. Näiteks on leitud, et hemolümfi hüüve, mis on üks olulisemaid immuun-

vastuse näitajaid putukatel, sarnaneb suurel määral imetajate verehübe mehhanismidega (Loof *et al.*, 2011; Theopold *et al.*, 2014).

Seda, millist kasu või hinda omab immuunfunktsioon isendile elukäiguomaduste evolutsioonis, uurib immuunökoloogia (Sheldon & Verhulst, 1996). Immuunökoloogia üheks oluliseks suunaks on uurida populatsioonidevahelisi erinevusi immunoloogilistes parameetrites ning leida seletusi nende erinevuste põhjustele (Vogelweith, Dourneau, & Thiéry, 2013). Putuka populatsioonide erinevusi immuunsuses on oluline mõista, kuna see aitab aru saada, kuidas on biotilised ja abiotilised mõjud kujundanud eri piirkondades evolutsiooni käigus erineva vastupanuvõime ja lõivsuhted teiste kohasuse tunnustega (Klemola *et al.*, 2007; Vogelweith, Thiery, *et al.*, 2013). Praktilisest küljest on nende teadmiste abil võimalik ohjata kahjureid keskkonnale vähem kahju tekitaval viisil (Smilanich & Dyer, 2012) ning piirata haiguste edasikandumist inimestele, tundes kindla piirkonna putukate resistentsust neile adapteerunud parasiitide suhtes (Crawford *et al.*, 2012). Labori tingimustes on biotiliste ja abiotiliste tingimuste erinevustest tulenevaid muutusi immuunfunktsioonis palju uuritud, kuid vähe on uurimusi selle kohta, kuidas varieerub immuunvastus populatsioonide vahel looduses (Vogelweith, Dourneau, *et al.*, 2013).

Töö eesmärk on välja selgitada, missuguseid immuunökoloogilisi uurimusi on putukatel seni läbi viidud, kas on leitud populatsioonidevahelisi erinevusi immuunökoloogilistes parameetrites ning erinevuste sõltuvust parasiteeritusest ja laiuskraadist. Lisaks on oluline leida, milliseid muid tunnuseid on nende katsete juures mõõdetud ning kas on leitud immuunsuse ja teiste isendi kohasust määravate elukäiguomaduste vahelisi lõivsuhteid. Bakalaureusetöö on aluseks edasisele teadustööle.

1. Putukate immuunsüsteem ja peamised mõõtmisviisid

Putukate sünnipärane immuunsus jaguneb humoraalseks ja rakuliseks (Lavine & Strand, 2002). Olenemata immuunvastuse tüübist, on esimene etapp enne immuunfunktsiooni aktiveerumist, alati patogeeni äratundmine (Tsakas & Marmaras, 2010). Selleks on putukate immuunsüsteemis spetsiifilised äratundmis retseptorid (*PRRs-patern-recognition receptors*), mis seonduvad sissetungijate rakukesta spetsiifiliste struktuuridega (*PAMPs-pathogen-associated molecular patterns*) (Medzhitov & Janeway, 1997). Sellele järgneb vastavalt patogeeni tüübile kas humoraalne või rakuline immuunvastus (Marmaras & Lampropoulou, 2009).

Sellest tulenevalt on putukate immunoloogiliste parameetrite mõõtmisel oluline teada, et erinevad haigustekitajad kutsuvad esile erinevaid spetsiifilisi või mittespetsiifilisi immuunfunktsioone (González-Santoyo & Córdoba-Aguilar, 2012). Samas on leitud, et mitmed erinevad immuunvastused on sõltuvad ühistest komponentidest. Näiteks fenooloksüdaasi aktiivsusest sõltuvad fagotsütoosi, melaniseerumise ja nodualtsiooni protsess, mis on eelkõige seotud bakterite, seente ja viiruste vastu võitlemisega (Sideri *et al.*, 2008; González-Santoyo & Córdoba-Aguilar, 2012). Arvatakse, et ensüüm fenooloksüdaas (*PO-phenoloxidase*) on üheks oluliseimaks komponendiks immuunvastuse esilekutsumisel (González-Santoyo & Córdoba-Aguilar, 2012). Samuti on fenooloksüdaasi aktiivsuse mõõtmine levinud vahendiks immuunökoloogias, et selgitada immuunvastuse tugevust (González-Santoyo & Córdoba-Aguilar, 2012). Lisaks on immuunökoloogias üheks laialdasemalt kasutatavaks parameetriks immuunvastuse hindamisel kapseldumisreaktsiooni mõõtmine. See on oluline parameeter, kuna näitab nii rakulist kui ka humoraalset immuunsust (Siva-Jothy *et al.*, 2005). Kapseldumisreaktsiooni käigus seonduvad hemotsüüdi rakud ümber suuremate sissetunginud võõrobjektide nagu hulk-rakused parasiidid (nende munad) või nematoodid (Nappi & Ottaviani, 2000; Marmaras & Lampropoulou, 2009). Enamasti süstitakse kapseldumisreaktsiooni esilekutsumiseks laboris putukate kehasse võõrkeha (näiteks räni-helmed), mis jäljendab parasiidi munemist peremeesorganismi (Seiter & Kingsolver, 2013).

2. Elukäiguomadused, immuunfunktsioon

Selleks, et organismid elus püsiks ning järglaste saamine oleks kindlustatud, tuleb neil pidevalt kulutada energiat erinevate füsioloogiliste protsesside käigus hoidmiseks. Elukäiguomadused on näiteks kehasuurus (erinevates arenguettapides), kasvukiirus, eluiga, järglaste arv ja immuunvastus (Lochmiller & Deerenberg, 2000; Schmid-Hempel, 2006). Erinevate elukäiguomaduste ja immuunfunktsiooni tarbeks on organismil kasutada piiratud koguses ressursse. Nende ressursside jaotusest sõltub organismi kohasus (Schmid-Hempel, 2005).

Elukäiguteooria seisukohalt on immuunsusel kallis hind ning selleks vajalike ressursside eest tuleb konkureerida teiste kohasuse tunnustega (Sheldon & Verhulst, 1996). Seega on immuunfunktsioon ja teised energiat vajavad protsessid organismis omavahelistes lõivsuhetes, see annab võimaluse paigutada ressursse nii, et isendi kohasus elukeskkonnas oleks võimalikult suur (Lochmiller & Deerenberg, 2000).

3. Referatiivne ülevaade populatsioonidevahelistest erinevustest immunoloogilistes parameetrites

3. 1. Liblikalised (*Lepidoptera*)

Vogelweith *et al.* (2013) kasutasid oma katsetes viinamarjaistanduste kahjurputukat Euroopa viinamarja kobarmähkurit (*Lobesia botrana*). Töös uuriti geograafilistest erinevustest tulenevat varieeruvust immuunvastuses erinevate populatsioonide vahel. Selleks koguti röövikuid Prantsusmaa põhja-, kesk- ja lõnaosa viinamarjaistandustest, samuti paljudelt erinevatelt viinamarjasortidelt iga istanduse siseselt. Igat viinamarjasorti käsitleti kui erinevat toidutaime. Immuunvastuse hindamiseks mõõdeti erinevatest istandustest korjatud röövikute immunoloogilisi näitajaid nagu hemotsüütide arvu, fenooloksüdaasi aktiivsust (*phenoloxidase activity*) ning erinevate antimikroobsete valkude ensümaatilist aktiivsust. Putukate kehasuuruse hindamiseks mõõdeti mikroskoopiliselt röövikute peakapsli külgede suurimat vahekaugust viimastes arengujärkudes. Hinnati missugune on suure kehasuuruse hind. Lisaks mõõdeti erinevate piirkondade parasiteeritust, et hinnata valikusurvet kohalikule populatsioonile.

Uurimuse tulemused näitasid, et populatsioonide vahel esines märkimisväärsed geograafilised erinevused immuunvastuses. Hemotsüütide arv, fenooloksüdaasi aktiivsus ja antimikroobne aktiivsus olid omavahel tugevas positiivses korrelatsioonis. Suurim erinevus hemotsüütide arvus kahe geograafiliselt eraldi asetseva populatsiooni vahel oli rohkem kui kaks korda. Samuti erinesid populatsioonid omavahel parasiteerituses (4-5 korda): immuunfunktsiooni aktiveerimine röövikutel oli tugevas positiivses sõltuvuses parasiteerituse ja keskmise õhutemperatuuriga. Tulemused näitasid, et soojematel temperatuuridel kasvavatel röövikutel oli immunoloogilised näitajad kõrgemad. Esines negatiivne sõltuvus immuunvastusesse tugevuse ja kehasuuruse vahel. Samuti leiti, et immuunsus oli sõltuv rööviku poolt toiduks tarbitavast viinamarjasordist.

Cory & Myers (2009) uurisid oma töös kedriklaste sugukonda (*Lasiocampidae*) kuuluva liigi *Malacosoma californicum* populatsioonidevahelist erinevust immuunvastuse tugevuses taimekaitsevahendina kasutatava nukleaarse polühedroosi viiruse (*nucleopolyhedrovirus*) nakkusele ning viiruse mõju populatsiooni arvukuse muutustele. Hüpoteesi (*the disease defence hypothesis*) kohaselt on valikusurve viirusega nakatumisel populatsiooni arvukuse tipp hetkel kõige tugevam parima vastupanuvõimega liblikatele

ning immuunsuse hinda näitab kahanevas populatsioonis nende liblikate vähenenud järglaste arv. Uuriti neljalt Briti Columbia Vancouveri saare lähedaselt saarelt (Mandarte, Galiano, Saturna ja Westham) pärit populatsioone. Katsed ja mõõtmised viidi läbi enne arvukuse tõusu, arvukuse tipp hetkel ja kahaneva arvukusega populatsioonis. Arvukuse muutuste hindamiseks loeti igal aastal kindlatest kohtadest võrgendikogumike arvu. Liblikate järglaste arvu hindamiseks koguti kokku munakurnad ning loendati munad. Igast võrgendikogumikust võeti kindel kogus röövikuid viirusega nakatumise hindamiseks. Röövikuid nakatati toites neid punase tamme lehtedega, mille pinnale oli kantud viiruse partikleid sisaldavat lahust. Katseid tehti erinevate doosidega. Nakatumise hindamiseks jälgiti röövikute suremust viiruse tagajärjel.

Erinevatelt saartelt pärit populatsioonide isendid olid viiruse suhtes erineva vastupanuvõimega. Westhami saare liblikad olid viiruse suhtes poolteist kuni kaks korda tundlikumad kui ülejäänud kolme populatsiooni isendid. Erinevalt teistest populatsioonidest, ei eelnenud Westhami populatsioonis viimasele arvukuse langusele suurt haiguspuhangut. Suured erinevused vastupanus viirusega nakatumisele esinesid sama asukoha erinevate perekondade võrgendikogumike vahel. Röövikute vastupanuvõime nakatumisele ei olnud sõltuvuses vanema poolt saadud järglaste arvuga. Leiti ka, et kurna suurus ei erinenud asukohati. Suuremate nakatamiseks kasutatud dooside juures oli suremus kõrgem võrreldes madalamate doosidega. Populatsioonide arvukuse tipp hetkel oli nakatumine nukleaarse polühedroosi viirusega kõige kõrgemal tasemel.

Seiter *et al.* (2013) uurisid enda katsetes väike-kapsaliblika (*Pieris rapae*) elukäigumaduste varieerumist erinevatel laiuskraadidel ja kontinentidel. Uuritavate tunnustena käsitleti kehasuurust, kasvukiirust ja immuunvastust. Immuunvastuse määramiseks mõõdeti röövikutesse süstitud ränihelmetest (*silica beads*) kapseldumist putuka hemotsüütide poolt. Mõõdeti aega, mis kulus nukuks arenemiseni ja nukukaalu. Katse jaoks koguti liblikaid Põhja- ja Lõuna-Jaapanist. Kogutud isendite järglased kasvatati samadel tingimustel (*common garden*). Röövikud pandi laboris kasvama juhuslikustatult kas külma keskkonda (20 °C), et imiteerida põhjapoolseid tingimusi või sooja (26,7 °C), imiteerimaks lõunapoolseid tingimusi. Saadud tulemusi kõrvutati sarnastel laiuskraadidel läbiviidud katsetega Põhja-Ameerikas (Seiter & Kingsolver, 2013), kus liblikaid koguti samuti põhja- ja lõunapoolsest populatsioonist. Mõlemate, nii põhja kui ka lõunapoolsete elupaikade kuu keskmised temperatuurid olid sarnastel laiuskraadidel lähedased (Seiter *et al.*, 2013).

Lisaks viidi läbi metaanalüüs, et selgitada, kas põhjapoolsetes populatsioonides on parasiidi (*Cotesia spp*) esinemine väiksem võrreldes lõunapoolsete populatsioonidega (Seiter & Kingsolver, 2013).

Seiter *et al.* (2013) uuritud katsete põhjal ei selgunud seost röövikute kapseldumisreaktsiooni ja laiuskraadi, kontinendi ega temperatuuri vahel. Kuna nimetatud tulemuste standardviga oli üsna suur, siis olid autorid andmete paikapidavuses kahtleval seisukohal. Laiuskraadi mõju ei pruukinud ilmnedagi tänu parasiitide erinevale valikusurvele eri kontinentidel. Seiter & Kingsolver (2013) leidsid, et pikema kasvuperioodiga lõunapoolsetes populatsioonides on tugevam immuunvastus (kapseldumise ala erinevus oli rohkem kui 0,5 μm). Kasvukiiruse ja immuunsuse vahel esines positiivne sõltuvus. Liblika arenguks kuluv aeg oli Jaapani ja Põhja-Ameerika katsete tulemuste põhjal lühem lõunapoolsetes populatsioonides ja kõrgema kasvutemperatuuri juures. Katsetulemused ei näidanud tugevat seost temperatuuri, mandri ja laiuskraadi ning väike-kapsaliblika nukukaalu vahel. Kasvukiiruse ja kehasuuruse vahel sõltuvust ei esinenud. Metaanalüüsi tulemused kinnitasid, et lõunapoolsetel laiuskraadidel, soojema keskmise temperatuuriga ning pikema kasvuperioodiga asukohtades on parasiidi (*Cotesia spp*) poolt põhjustatud parasitism rohkem kui kaks korda tugevam võrreldes põhjapoolsete laiuskraadidega (Seiter & Kingsolver, 2013).

McNamara *et al.* (2013) võrdlesid lõuna-aidaleediku (*Plodia interpunctella*) immuunvastust erineva sugulise valiku all olevate populatsioonide vahel. Immuunsuse hindamiseks mõõdeti fenooloksüdaasi aktiivsust (hemolümfi neeldumise muutust dopamiin-hüdrokloriidiga kitil) ja lüütilist aktiivsust bakteri *Arthrobacter globiformis* vastu (bakteriga tassile pipeteeriti hemolümfi ja hinnati tekkinud lüüsilaikude suurust). Röövikuid kaaluti. Katsetes kasutati erineva sugude suhtega populatsioone: emaseid rohkem (1:3 isased:emased), võrdselt (1:1 isased:emased), isaseid rohkem (3:1 isased:emased). Kuigi antud populatsioonid loodi kunstlikult laboritingimustes, võib ka looduses kallutatud sugudesuhtega populatsioonid esineda.

Fenooloksüdaasi aktiivsus oli isastel liblikaröövikutel kaks korda madalam suurema emaste osakaaluga populatsioonides kui suurema isaste osakaaluga populatsioonides. Lüütilise aktiivsuse suhtes immuunsuse erinevust populatsioonide vahel ei leitud. Immuunsuse sõltuvus röövikute suurusest ilmnis üksnes lüütilise aktiivsuse puhul: aktiivsus oli madalam suurematel röövikutel.

Altizer (2001) uuris oma töös, kuidas mõjutab monarhliblikate (*Danaus plexippus*) rände kaugus ja geograafiline päritolu vastupanuvõimet parasiitidele ja nende parasiidi *Ophryocystis elektroscirrha* virulentsuse taset. Katses võrreldi Põhja-Ameerika ida- ja lääneosa rändavaid populatsioone ning rändavat idaosa ja paikset Florida populatsiooni. Loodusest püütud liblikate järglasi nakatati laboris röövikutena peremehe erinevatest elupaikadest pärit parasiidi spooridega. Pärast nakatumist loeti kõikide valmikuks saanud liblikate arv. 48 h pärast nukust koorumist lõigati liblika kõhupiirkonda haav ning leiti spetsiaalse teibi abil parasiidi spooride arv ühelt ruutsentimeetrilt. Lisaks kaaluti valmikuid üks päev pärast nukkude koorumist ja mõõdeti eestiiva pikkus eestiiva kinnituskohast tiiva servaalani. Osadel liblikatel jälgiti veekaotust, kaaludes neid iga kolme päeva tagant.

Läänest pärit parasiidid olid virulentsemad ja idast pärit liblikad resistentsemad. Lühikese rändega idaosa ja paikse Florida populatsioonide võrdlusel selgus, et Florida populatsiooni parasiidid olid virulentsemad, kuid liblikate resistentsuses populatsioonide vahel olulisi erinevusi ei leitud. Putukate tiiva pikkus, valmiku kaal ja veekaotus erines populatsiooniti. Pikemat rännet läbiva ida populatsiooni isendid olid suuremate tiibade ja kehamassiga. Ainurakse parasiidi *O. elektroscirrha* nakkuslikus ei olenenud sellest, kas ta on oma peremehega pärit samast asukohast või mitte.

Klemola *et al.* (2007) uurisid, kuidas erineb immuunvastus hariliku hallavaksiku (*Epirrita autumnata*) populatsioonide vahel. Katses võrreldi kokku kümme Põhja-Soome ja Norra aladelt pärit populatsiooni. Mitme aasta vältel hinnati populatsioonide isendite arvukust. Loodusest koguti röövikud, keda laboris kuni nukkumiseni edasi kasvatati. Iga asukoha nukud jaotati laboris kaheks. Ühte osa kasutati immunoloogiliste näitajate ja varase parasiteerituse uurimiseks kohe. Teist osa hoiti looduses eraldatud karpides, kuid vabalt eksponeerituna parasitoididele, et hinnata hilisemat parasiteeritust. Laboris immuunsuse hindamiseks mõõdeti nukkudesse süstitud kunstlike antigeenide kapseldumise taset hemotsüütide poolt. Enne immuunreaktsiooni mõõtmist nukud kaaluti ja määrati sugu. Parasitoidide mõju hinnati peremehe valmikuks arenemise või suremise põhjal ning parasitoidi röövikute eduka koorumise järgi. Uuriti parasiteerituse ja immuunvastuse tugevuse vahelist seost. Püügikohtade suurim vahemaa kahe asukoha vahel oli 80 km, väikseim 1,2 km.

Populatsiooni päritolu, populatsiooni arvukus ja varane parasitism liblika röövikutel kapseldumise tasemes erinevusi ei avaldanud. Siiski selgus, et kõrgem parasiteeritus

looduses hoitud liblika nukkudel (hilisem parasiteeritus) oli seotud laboris leitud kõrgema kapseldumise tasemega ja suurema kehasuurusega. Parasitoidid jäid paremini ellu suuremas peremeesorganismis, olenemata peremehe tugevamast immuunvastusest. Parasiteerituse protsent liblikatele kõikus asukohtade vahel 22%. Ei leitud, et populatsiooni arvukuse kõikumise põhjuseks oleksid erinevused immuunsuses. Liblikanukkude kaal ja järglaste arv erinesid asukohati ning olid väiksemad kõrge arvukuse korral.

Smilanich & Dyer (2012) uurisid oma töös banaaniistandustes kasutatavate pestitsiidide mõju koerlibliklaste sugukonda (*Nymphalidae*) kuuluva liigi *Caligo memnon* röövikute immuunvastusele ja parasitoidide populatsioonidele. Hüpoteesi kohaselt võiks pestitsiididega kokkupuutunud taimi söövatel röövikutel immuunvastus nõrgeneda. Kõik immuunsuse uurimiseks vajalikud röövikud koguti kahest banaaniistandusest Costa Rical. Ühes istanduses kasutati pestitsiide mõõdukalt, teises tavapärase normi kohaselt. Röövikuid toideti kas pestitsiididega kokkupuutunud lehtedega (kogutud istandustest) või pestitsiidivabade lehtedega (kogutud La Selva ümbruskonna metsadest). Immuunsuse hindamiseks süstiti 3. kuni 5. vastsejärgus röövikute hemotsööli Kongo punasega (*Congo Red*) seotud helmeid (*sephadex beads*). Mõõdeti kapseldumisele järgneva melaniseerumise intensiivsust. Oletatavasti on banaaniistandustes parasiteeritus röövikutele madalam kui ümbruskonna metsades. Parasiitide mõju hindamiseks kasvatati istandustest kogutud röövikuid laboris ja jälgiti igapäevaselt parasitoidi valmikute väljumist peremehest.

Tulemustest ilmnnes, et röövikud, kes toituisid pestitsiidivabadest lehtedest, olid tugevama immuunreaktsiooniga kui pestitsiididega kokkupuutunud röövikud. Melaniseerumine erines 5-10 % ulatuses. Uurimisel selgus, et banaaniistanduste röövikutel oli parasiteeritus ligikaudu 10 % võrra nõrgem kui metsas. Seega parasiitide mõju kasvas pestitsiidide vähenemisel.

3.2. Kahetiivalised (*Diptera*)

Tinsley *et al.* (2006) uurisid oma töös äädikakärbse (*Drosophila melanogaster*) populatsioonidevahelist geneetilist erinevust immuunvastuses. Selleks nakatati kuuest erinevast populatsioonist pärit äädikakärbseid entomopatogeense seene *Beauveria bassiana* spooridega. Katse käigus jälgiti 28 päeva jooksul peremeesliigi suremust. Uuritud populatsioonidest neli pärinesid äädikakärbse põlisest elupaigast Aafrikast ja kaks liigi poolt hilisemalt asustatud populatsioonidest parasvöötme kliimast.

Katsete tulemused näitasid märkimisväärset geneetilist erinevust populatsioonide vahel patogeeni nakatumisel. Selgus, et erinevad populatsioonid suudavad *B. bassiana* nakatumisega võidelda erineval määral. Viisteist päeva pärast seenega kokkupuutumist varieerus suremus populatsioonide vahel üle 40%. Aafrika äädikakärbsed olid nakatumisele vähem tundlikud kui parasvöetmelise kliimaga asukohtadest pärit kärbsed. Autorid viitavad varem läbi viidud katsetele, mis näitavad et laiuskraadi kasvades kahaneb parasiitide mitmekesisus (Guernier *et al.*, 2004). Lisaks on varasemad uurimused leidnud, et liigi poolt hiljem asustatud elupaikades on parasiteeritus väiksem (Torchin *et al.*, 2003). See omakorda võib olla põhjustanud väiksema investeeringu immuunsusesse parasvöetmelistes tingimustes.

Lazzaro *et al.*, (2008) uurisid oma töös äädikakärbse (*D. melanogaster*) populatsioonidevahelisi geneetilisi erinevusi parasiteeriva bakteri (*Providencia rettgeriga*) nakatumise vastu võitlemises sõltuvalt keskkonnatemperatuurist. Vastuvõtlikkust bakterile hinnati suremuse kaudu. Veel uuriti kuidas äädikakärbsede immuunsus on seotud paljunemise edukusega. Kärbsed koguti Kongost ja kahest USA osariigist: New Yorgist ja Georgiast.

Uurimise tulemused näitasid, et keskkonnatemperatuuril on mõju nii immuunvastuse tugevusele kui ka viljakusele. 48 h jooksul pärast bakteriga nakatamist suri 28 °C juures 38,7%, 23 °C juures 11,4% ja 18 °C juures 10,9% kärbestest. Esines genotüübi ja keskkonna vaheline interaktsioon. See tähendab, et erineva genotüübiga populatsioonide isendid arenenesid eri keskkonades eri fenotüüpideks. Töös leiti, et Aafrikast pärit äädikakärbsed olid madalal temperatuuril vähem edukad võrreldes Põhja-Ameerika kärbestega, seda nii võitluses bakteriga kui ka viljakuse osas, kuid kõrgemal temperatuuril olid edukamad Aafrikast pärit kärbsed. Töös ei ilmnenu löivsuhet immuunfunktsiooni ja viljakuse vahel, mis võiks kinnitada immuunvastuse eest makstavat kõrget hinda.

Thomas-Orillard *et al.* (1995) uurisid ühe osana oma tööst, kuidas erineb äädikakärbsede (*D. melanogaster*) vastupanuvõime nakatumisel Drosophila C-viiruse Charollese tüvega (RNA viirus) populatsiooniti. Äädikakärbsede tundlikust viiruse suhtes testiti neile viiruse osakesi sisaldava lahuse süstimisega kõhupiirkonda. Hiljem hinnati kärbsede suremust protsentuaalselt iga süstimisele järgneva päeva kohta. Võrreldi 15 erinevat äädikakärbse liini, mille algse populatsioonid pärinesid Euroopast, Aafrikast, USA-st ja Jaapanist.

Erineva geograafilise päritoluga äädikakärbse populatsioonid erinesid Drosophila C-viiruse Charollese tüve vastuvõtlikkuse suhtes. Jaapani Nagasaki populatsiooni isendid surid viiruse mõjul välja kahe nädalaga, Euroopast, Aafrikast, USA-st pärit isendid nädalaga.

Green *et al.* (2000) uurisid oma töö ühes osas eri äädikakärbse (*D. melanogaster*) populatsioonide vastupanuvõimet endoparasiidi (peremehe kehas elavad parasiidid) *Asobara tabida* eri liinidele. Eesmärk oli saada teada, kas konkreetsel parasiidiliinil esineb piirkondlikke kohastumusi, mille hindamiseks loeti lahatud peremeesorganismis kapseldunud (*encapsulation rate*) ja mitte-kapseldunud parasitoidi munade arvu viis päeva peale nakatumist. Äädikakärbestel ei leitud lokaalseid kohastumusi kindlale parasiidiliinile: kapseldumine ei erinenud parasiidiliinilt.

Crawford *et al.* (2012) uurisid oma töös malaariasäase (*Anopheles gambiae*) populatsioonidevahelist geneetilist varieeruvust malaaria parasiidiga *Plasmodium falciparum* nakatumise vastupanus osalevate 28 geeni lookuse ulatuses (*Plasmodium-Resistance Island*). (*A. gambiae*) alampopulatsioonide isendeid on võimalik eristada üksnes geneetiliste erinevuste alusel. Nad jaotatakse "S" molekulaarseks vormiks (Saharast allpool asuva Aafrika populatsioonid) ja sellest eraldunud "M" vormiks (Lääne-Aafrika populatsioonid). "M" ja "S" vormid ei ole enamasti võimelised omavahel järglasi saama, kuid on leitud siiski mõningaid hübriidseid vorme.

Selgus, et kõigi uuritud 28 geenilookuse alleelisagedustes esinesid piirkondlikud erinevused sageduste osas. Kuigi leiti, et erinevused ei ole põhjustatud ainult malaaria parasiidi poolt tekitatud valikusurve. Rakenduslikult küljest oleks geneetiliste erinevuste uurimisel võimalik leida olulisi sääse immuunsuse eest vastutavaid gene, mille vaigistamine aitaks kontrollida malaaria levikut.

3.3. Sihktiivalised (*Orthoptera*)

Kurtz *et al.* (2002) uurisid oma töös immuunvastuse erinevust hariliku rohutirtsu (*Chorthippus biguttulus*) kahe loodusliku populatsiooni vahel ja elupaiga vahetusest tulenevaid muutuseid immuunsuses. Katse jaoks püüti loodusest rohutirtse, keda paljundati ja kasvatati enne loodusesse tagasi viimist laboris, et vähendada võimaliku eelneva kokkupuute mõjusid parasiitidega. Kahest erinevast populatsioonist pärit rohutirtsud pandi elama enda algupärasesse elupaika ja uude elupaika. Mõlemast piirkonnast taaspüütud isendid kaaluti ja mõõdeti nende immunoloogilisi parameetreid. Immuunvastuse tugevuse

hindamiseks leiti fagotsüütide (õgirakkude) aktiivsus rohutirtsude hemolümfis: määrati fagotsüütide protsent (rakkude protsent, mis olid võimelised alla neelama fluorestsentsiga märgistatud ränihelmeid) ja fagotsüütoosi indeks (keskmise ränihelmeste arv ühe raku kohta). Putukad püüti Saksamaalt Siegauest ja 40 km kaugusel asuvast Eifelist.

Katsete tulemused näitasid immuunfunktsioonide nõrgenemist putukate viimisel uude elupaika. Rohutirtsudel vähenes nii fagotsüütide aktiivsete hemotsüütide protsent (11,4% võrra) kui ka ühe fagotsüüdi poolt alla neelatud ränihelmeste arv (5,8% võrra). Siegaue ja Eifeli algpopulatsioonide vahel immuunsuses erinevusi ei olnud. Eifeli rohutirtsud olid keskmiselt 11% raskemad. Elupaiga vahetus ei põhjendanud muutuseid rohutirtsude kehamassis. Katsete põhjal mõjutas putukate uude elupaika viimine immuunsust, kuid ei avaldanud mõju teistele mõõdetud elukäiguomadustele. Autorite hinnangul võib nõrgenenud immuunvastus olla tingitud parasiitide väiksemast kohasusest uuest populatsioonist pärit peremehe immuunsüsteemiga võitlemisel. Kehamass uues keskkonnas ei kasvanud, kuigi vähenenud investeering immuunvastusesse peaks võimaldama suuremat investeeringut muudesse tunnustesse.

Graham *et al.* (2015) uurisid, kuidas Austraalia rändrohutirtsude *Chortoicetes terminifera* üldine kehaline seisund (valkude sisaldus hemolümfis, putukate kuivkaal ning rasvasisaldus) mõjutab nende immuunreaktsioone ja millised on populatsioonidevahelised erinevused nende tunnuste osas. Immuunsuse hindamiseks loeti hemotsüütide arv, mõõdeti profenooloksüdaaset (*prophenoloxidase*) aktiivsust ja hinnati lüütilist aktiivsust (*lytic activity*) *Micrococcus luteus* vastu (agariplaadil kasvanud bakterile pandi peale putuka hemolümfis ja seejärel võrreldi lüüsilaike). Üldise kehalise seisundi näitajaid ja immuunsust võrreldi kolme geograafiliselt eraldatud rändrohutirtsu Lõuna-Austraalia populatsiooni vahel. Püügikohtade Yatina ja Yongala vahemaa oli 1,4 km ja kolmas püügikoht Mt. Bryan asus eelnevatest aladest 55 km kaugusel.

Valkude sisaldus hemolümfis erines populatsioonide vahel: Mt. Bryani populatsioonis oli valkude tase umbkaudu 0,6 korda madalam kui Yatina ja Yongala populatsioonis, kahe viimase omavaheline erinevus oli väiksem. Kuivkaal rohutirtsudel ei erinenud, kuid suhteline rasvasisaldus oli erinev. Mt. Bryani populatsiooni isenditel oli teistega võrreldes väiksem rasvasisaldus. Immuunvastuses esines populatsioonidevaheline erinevus ainult hemotsüütide arvu osas: Mt. Bryani isenditel oli hemotsüütide arv 10 võrra Yatina ja Yongala populatsioonide isenditest väiksem. Hemotsüütide arv ja lüütiline aktiivsus oli

valgusisaldusega positiivses sõltuvuses. See kinnitab, et valgud omavad suurt tähtsust võitlemisel parasiitide ja patogeenidega, olles peamiseks alusaineks immunoloogiliste komponentide moodustumisel. Profenooloksüdaasi aktiivsus oli valkude tasemega negatiivses sõltuvuses. Profenooloksüdaasne ja lüütiline aktiivsus sõltusid rasvasisaldusest. Profenooloksüdaasi puhul oli seos rasvasisaldusega negatiivne. Rohutirtsude arvukus populatsiooniti ei erinenud.

3.4. Mardikalised (*Coleoptera*)

Ots *et al.* (2005) uurisid oma töös poilaste sugukonna (*Chrysomelidae*) esindaja kartulimardika (*Leptinotarsa decemlineata*) immuunfunktsiooni ja kehamassi kui putukate üldiste tervisliku seisundi näitajate varieerumist asukohati. Immuunvastuse hindamiseks mõõdeti mardikatel hemotsütomeetriga hemotsüütide kontsentratsiooni 1 μ L hemolümfis. Uuriti immuunfunktsiooni ja eluskaalu ning eluskaalu ja rasvasisalduse omavahelisi korrelatsioone. Katsete käigus määrati iga mardika sugu, mõõdeti eluskaal ja määrati rasvasisaldus. Putukad koguti katsete jaoks kahelt Tartu lähedal asuvalt kartulipõllult. Ühel põllul kasvatati kartulit esimest aastat, teisel oli kartulit kasvatatud kümme aastat järjest. Kahe põllu vahemaa oli 500 m, seega võisid mardikad olla ka looduslikult ühe põllu pealt teisele levinud. Põllult püütud mardikate järglasi kasvatati laboris samadel tingimustel (*common garden*) kuni nukust väljumiseni ning viidi läbi eelpool mainitud katsed.

Katse tulemused näitasid, et nii hemotsüütide kontsentratsioon, kui ka eluskaal esimese aasta kartulipõllult pärit isenditel oli suurem kui vanalt põllult pärit isenditel. Hemotsüütide arv μ l kohta erienes umbes 1400 raku võrra. Eluskaal erines umbes 25-30 mg võrra. Esines positiivne sõltuvus eluskaalu ja hemotsüütide kontsentratsiooni vahel. Eluskaal oli otseses sõltuvuses rasvasisaldusega, mis näitab eluskaalu mõõtmise võimalikku sobivust selle putukaliigi tervisliku seisundi määramiseks.

3.5. Kiililised (*Odonata*)

De Block *et al.* (2008) uurisid populatsioonidevahelisi erinevusi seenliidriki (*Enallagma cyathigerum*) kasvukiiruses. Ühe osana tööst uuriti kasvukiiruse ja immuunfunktsiooni vahelist seost. Immuunsuse hindamiseks mõõdeti liidrikuvastsete fenooloksüdaasi aktiivsust. Omavahel võrreldi Hispaaniast, Belgiast ja Rootsist pärit seenliidriki populatsioone. Kaugeimad populatsioonid asusid üksteisest 2350 km kaugusel, moodustades laiuskraadilise gradiendi. Hispaania ja Belgia populatsioonid olid üheaastase

generatsiooniajaga. Rootsi populatsiooni generatsiooniaeg looduses on kaks aastat või rohkem, kuid oli läbiviidud katsetes sarnane üheaastase generatsiooniajaga populatsioonide esindajatega. Loodusest koguti liidrike munad, mida kasvatati laboris samadel tingimustel (*common garden*) valmikuni. Osasid putukaid näljutati kindla perioodi vältel, et tekitada sarnast olukorda toidupuudusega, kus röövikud püüavad väiksemaks jäänud kehasuruust kompenseerida suurema kasvukiirusega (*compensatory growth*).

Katsed näitasid immuunvastuse tugevuse erinevust normaalse toitumusega kasvanud seenliidrike populatsioonide vahel ja sõltuvust laiuskraadist. Näljutatud isenditel selgeid populatsioonidevahelisi erinevusi ei ilmnunud. Kasvukiiruse kasvades suurenes fenooloksüdaasi aktiivsus, olles kõrgeim Rootsis (~4,7 ühikut), ja vähenedes lõunapoolse liikudes (Belgias ~4,5 ü; Hispaanias ~4,2 ü). Kõrgeim suremus oli suurima fenooloksüdaasi aktiivsusega Rootsi populatsioonis. Putukatel, keda oli läbi lühikese näljutamisperioodi sunnitud kiiremini kasvama, olid nõrgema immuunvastusega.

Kaunisto & Suhonen (2012) uurisid oma töös odaliidriku (*Coenagrion hastulatum*) populatsioonidevahelisi erinevusi immunoloogilistes parameetrites ja nende näitajate seost geograafilise asukoha (laiuskraadi), parasiteerituse ja peremehe kehasuurusega. Liidrike immuunsust hinnati kapseldumisreaktsiooni tugevuse järgi, viies organismi nailonist osakesed loodusliku parasiidi rünnaku imiteerimiseks. 12 h pärast mõõdeti kapseldumisest ja melaniseerumisest tulenevaid muutusi optilises tiheduses stereomikroskoobi abiga tehtud piltidelt. Stereomikroskoobiga vaadeldes leiti ka ektoparasiitidest vesilestade (*Acari: Hydrachnida*) arv odaliidrike kehapiinal olevatest haavadest. Lahatud putukates loeti endoparasiitidest gregariinide (*Protozoa*) arv. Kehasuuruse hindamiseks mõõdeti liidrike tiivapikkust. Võrreldi 13 üksteisest eraldatud odaliidriku populatsiooni Soomes. Liidrike koguti erinevatelt laiuskraadidelt. Kõige lõuna- ja põhjapoolsema populatsiooni vahemaa oli 880 km.

Immuunvastuse tugevus sõltus vesilestade arvukusest, laiuskraadist ja peremeesorganismi suurusest. Immuunvastuse tugevuse erinevused populatsioonide vahel kasvasid vesilestade arvukuse tõustes. Suuremad isendid olid tugevama immuunreaktsiooniga. Gregariinide arvukus liidrike immuunfunktsiooni ei mõjutanud ja ei ole seega ilmselt märgatavate populatsioonidevaheliste erinevuste põhjustajaks odaliidriku immuunoloogilistes parameetrites.

Iserbyt *et al.* (2012) uurisid osana oma tööst geograafilistest ning ökoloogilistest erinevustest tulenevat mitmekesisust liidriku *Nehalennia irene* füsioloogiliste tunnuste osas. Uuritavate füsioloogiliste tunnustena käsitleti investeerimist immuunsüsteemi, sigimisse ja lennulihasesse. Vastavateks näitajateks mõõdeti fenooloksüdaasi aktiivsust, rasvamassi ja valkude hulka kõhupiirkonnas ning valkude hulka rindmikus. Lisaks uuriti kohasusega seotud tunnuste omavahelisi lõivsuhteid. Uuriti 89 populatsiooni 1100 km pikkusel edela-kirde suunaga lõigul Saint Laurence'i jõe kallastelt. Uurimisala erines nii populatsiooni tiheduse, temperatuuri kui ka niiskusrežiimi osas. Füsioloogiliste tunnuste hindamiseks valiti lõigult kaheksa punkti võimalikult erineva populatsiooni tihedusega ning ilmastikutingimustega.

Uurimuse tulemused näitasid, et populatsioonide vahel esinesid morfoloogilised erinevused, kuid need ei olnud sõltuvad geograafilistest asukohast ja olid ainult nõrgalt seotud erinevate ökoloogiliste parameetritega. Muutused ökoloogilistes tingimustes ei mõjutanud erinevate morfoloogiliste tunnustega isendeid kohasusega seotud tunnuste osas. Võimalik, et sellised tulemused näitavad morfoloogiliste erinevuste tekkimist ruumis läbi juhuslike protsesside. Lisaks on võimalik, et käesolevas töös ei käsitletud mingeid tugevasti varieeruvaid ökoloogilisi parameetreid, mis võib olla morfoloogilise erinevuse põhjuseks ruumis. Siiski leiti, et andromorfidel (sinise kehaga) oli PO aktiivsuse näitajad 10% kõrgemad gynomorfidest (rindmik külgedelt kollakas). Valkude sisaldus rindmikus oli andromorfidel 5% madalam võrreldes gynomorfidega. Esines negatiivne sõltuvus investeringutes immuunfunktsiooni ja lennulihasse. Suurem valgusisaldus rindmikus oli seotud nõrgema immuunreaktsiooniga.

3.6. Kiletiivalised (*Hymenoptera*)

Doums & Moret (2002) uurisid karukimalase (*Bombus terrestris*) ja maakimalase (*B. lucorum*) immuunreaktsioonide tugevuse sõltuvust putukate vanusest. Maakimalase (*B. lucorum*) puhul käsitleti ühe osana tööst ka immuunvastuse erinevusi kahes Šveitsi piirkonnas. Immuunsuse hindamiseks süstiti putukatesse nailonkiude (*nylon monofilament*), et jäljendada looduses esineva endoparasiidi rünnakut. 12 h möödudes külmutati kimalased surnuks ja mõõdeti kiudude valguse läbilaskvuse muutust kapseldumisreaktsioonist põhjustatud melaniseerumisest (süstitud nailonkiudude tumenemine). Katsetes võrreldi kolme kolooniat Zürichi ja Baseli lähedastelt madalalt kõrgustelt (400

m merepinnast) ja viite kolooniat Šveitsi Alpidest Valaisi lähedalt suurematel kõrgustel (1600 m merepinnast).

Katsete tulemused näitasid, et kapseldumisreaktsiooni tugevus ei erinenud populatsioonide vahel. Samuti ei erinenud maakimalaste *B. lucorum* populatsioonide vahel immuunreaktsiooni ja vanuse vaheline sõltuvus. Vanematel kimalastel oli kõigis populatsioonides kapseldumisreaktsioon nõrgem.

Brunner *et al.* (2013) uurisid osana oma tööst, kuidas erineb immuunsüsteemiga seotud geenide ekspressioon karukimalaste (*B. terrestris*) kahe geograafiliselt erineva asukohaga ja parasiteeritusega populatsioonide vahel. Omavahel võrreldi 28 immunoloogiliselt olulise geeni ekspressiooni töölistel. Kimalasi nakatati nende sooleparasiidi *Crithidia bombi* rakke sisaldava lahusega toites. Hiljem eraldati purustatud kõhusegmentidest RNA, millelt analüüside tulemusena hinnati erinevate immunsusega seotud geenide ekspressioon.

Uurimise tulemused näitasid selget varieeruvust populatsiooniti kimalaste immuunfunktsioonidega seotud geenide ekspressioonis. Erineva päritoluga kimalastel esines oluline erinevus valku peroksiredoksiin5 (*peroxiredoxin5*) kodeeriva geeni ekspressioonis. Peroksiredoksiin5 on tähtis komponent karukimalaste immuunsüsteemis, tehes kahjutuks organismis tekkinud hapnikuradikaale (*reactive oxygen species*).

4. Süntees populatsioonidevahelistest erinevustest immuunökoloogilistes tunnustes

Refereeritud 21 artiklist leiti 15 korral populatsioonidevaheline erinevus immuunsust määravates tunnustes ning kuuel juhul erinevuseid ei ilmnenu. Kõige enam hinnati immuunvastuse tugevuse erinevuste esinemise põhjuseks populatsioonide vahel parasiitide poolt avaldatava valikusurve erinevust. Refereeritud artiklitest üheksas uuriti otseselt, kuidas parasiteeritus mõjutab immuunreaktsiooni tugevust. Kaheksal juhul selgus, et kõrgem parasiitide arv põhjustas putuka populatsioonidel tugevama immuunreaktsiooni. Liblikalisitel ilmnis kuuel juhul seitsmest positiivne sõltuvus. Ühel juhul oli sõltuvus negatiivne: monarhliblikate (*D. plexippus*) Põhja-Ameerika idaosa populatsioonis olid liblikad resistentsemad olenemata madalamast virulentsusest samast piirkonnast pärit parasiitidele. Selline tulemus võib-olla seotud monarhliblikate erineva rändekäitumisega (Altizer, 2001). Pikk ränne nõuab paremat immuunvastust idaosa populatsioonil ning lühema rändeteega ja mitterändavates populatsioonides on tagatud parasiitide edukam edasikandumine ja kohastumine peremehele (Altizer, 2001). Positiivne sõltuvus leiti veel ühel juhul kahetiivalistel ja ühel juhul kiilistel.

Lisaks artiklitele, kus otseselt uuriti parasiteeritust, toodi mitmes artiklis välja erinevused parasitismis kui immuunreaktsiooni erinevuste võimaliku põhjustajana populatsioonides. Näiteks karukimalaste (*B. terrestris*) populatsioonidevahelised erinevused immuunfunktsioone määravate geenide ekspressioonis võivad tuleneda erinevast parasiitide arvust või virulentsusest asukohtade vahel (Brunner *et al.*, 2013). Samuti hinnati erinevuste ilmumist fenooloksüdaasi aktiivsuses seenliidriku (*E. cyathigerum*) populatsioonide vahel sõltuvaks parasiteeritusest (De Block *et al.*, 2008). Hariliku rohutirtsuga (*C. biguttulus*) läbiviidud katsetest selgus, et uude elupaika viidud isenditel avaldus nõrgem immuunvastus. Artikli autorite arvates oli see nõrgemalt kohastunud parasiitide tõttu (Kurtz *et al.*, 2002). Need tulemused näitavad, et varieeruvused immuunvastuses tulenevad sageli parasiitide-poolse valikusurve erinevusest asukohtade vahel.

Laiuskraadil oli mõju immuunreaktsiooni tugevusele käsitletud artiklitest viiel juhul. Euroopa viinamarja kobarmähkuri (*L. botrana*), väike-kapsaliblika (*P. rapae*) ja ühe äädikakärbse (*D. melanogaster*) puhul leiti, et lõunapoolsetel laiuskraadidel on immuunreaktsioon tugevam kui põhja pool (Tinsley *et al.*, 2006; Seiter & Kingsolver, 2013; Vogelweith, Dourneau, *et al.*, 2013). Kõigil neil juhtudel oli lõunapoolsetes populatsioonides ka kõrgem parasiteeritus. Seenliidriku (*E. cyathigerum*) puhul oli

immuunreaktsioon (fenooloksüdaasi aktiivsus) lõuna pool madalam kui põhja pool ja seda olenemata kiiremast kasvust (De Block *et al.*, 2008). Odaliidriku (*C. hastulatum*) uurinud artiklis ilmnes immuunvastuse sõltuvus laiuskraadist, kuid puudub täpsustus, mis pidi mõju avaldus.

Immuunvastuse ja teiste elukäiguomaduste vahelistest seostest kõige sagedasemalt käsitleti refereeritud artiklites immuunsuse ja kehasuuruse vahelist sõltuvust. Kolmes liblikalisi uurinud artiklis tuli välja negatiivne seos (Klemola *et al.*, 2007; McNamara *et al.*, 2013; Vogelweith, Dourneau, *et al.*, 2013) ja ühes positiivne (Altizer, 2001). Ühel juhul tugevat seost ei ilmnenud (Seiter & Kingsolver, 2013). Veel leiti positiivne sõltuvus immuunsuse ja kehasuuruse vahel mardikaliste ja ühe kiililiste seltsi kuuluva liigiga (Ots *et al.*, 2005; Kaunisto & Suhonen, 2012). Negatiivne korrealtsioon võiks viidata immuunfunktsiooni aktiveerimise kõrgele hinnale, mis avaldub vähenenud kehasuurusena (Vogelweith, Thiery, *et al.*, 2013). Kuna refereeritud artiklitest esines nii positiivseid kui ka negatiivseid korrelatsioone, siis bakalaureusetöö autori hinnagul ei ole kehasuurus populatsiooni tasemel parim tunnus immuunsuse hinna üle otsustamiseks.

Kasvukiiruse ja immuunfunktsiooni vahelisi lõivsuhteid uuriti liblikalistest väikekapsaliblikal (*P. rapae*) ja kiililistest seenliidrikel (*E. cyathigerum*). Mõlema korral saadi tulemuseks positiivne sõltuvus, mis ei viita sellele, et ressursi paigutamine kiiresti kasvamisele vähendaks võimalust energiat investeerida immuunsusse (De Block *et al.*, 2008). Seenliidrikel puhul leiti siiski ka, et putukad, keda oli läbi lühikese näljutamisperioodi sunnitud kiiremini kasvama, olid nõrgema immuunvastusega. Immuunsuse kõrgele hinnale viitas seenliidrikel ka positiivne sõltuvus immuunreaktsiooni (fenooloksüdaasi aktiivsus) tugevuse ja putukate suremuse vahel. Samuti kinnitab eelev, et tugevaim immuunreaktsioon ei ole alati parim ja võib tänu autoimmuunsusele hoopis iseenda rakkudele ja kudedele kahjulikuks osutada (Zuk & Stoehr, 2002). Immuunsuse ja viljakuse vahel ilmnes ühel juhul negatiivne seos (Klemola *et al.*, 2007) ja ühel juhul leiti positiivne seos (Lazzaro *et al.*, 2008). Immuunfunktsiooni aktiveerimise kõrgele hinnale viitab veel Austraalia rändrohutirtsudega (*C. terminifera*) ja ühe liidriku liigiga *N. irene* läbi viidud katsetes leitud negatiivne sõltuvus fenooloksüdaasi aktiivsuse ja valgusisalduse vahel. Erinevad tulemused immuunsüsteemi ja teiste elukäiguomaduste vaheliste seoste vahel näitavad, et immuunsuse hinda looduslikes populatsioonides on raske tuvastada (Cornet *et*

al., 2009). Siiski on korduvalt näidatud, et immuunfunktsioonil on kõrge hind ja esinevad lõivsuhted teiste elukäiguomadustega (Schmid-Hempel, 2005).

Erinevuste mitteesinemiste põhjuseid populatsioonide vahel ei ole väga hästi refereeritud artiklites välja toodud. Väike-kapsaliblikaga (*P. rapae*) tehtud uurimuses ei ilmnenu populatsioonidevahelisi erinevusi immuunsuses tõenäoliselt suure standardvea tõttu (Seiter *et al.*, 2013). Hariliku hallavaksikut (*E. autumnata*) käsitletud artiklis põhjendasid autorid erinevuste puudumist kolme võimaliku mõjuga: kapseldumine ei pruukinud näidata parasiidi elutegevust, populatsioonid olid arvukuse muutuste tsüklilt liiga sarnased, parasiidid on omandanud võime teataval määral peremehe immuunsusest kõrvale hiilida. Üldiselt tuleks immuunökoloogilistes katsetes vältida olukorda, kus mõõdetakse ainult ühte immuunvastust näitavat parameetrit (Adamo, 2004). Lisaks laboris teostatavate immunoloogiliste tunnuste mõõtmisele tuleks immuunökoloogiliste uurimuste korral peremehe resistentsust tema patogeenidele uurida ka looduses (*host resistance test*) (Klemola *et al.*, 2007).

Refereeritud artiklite põhjal ei ilmnenu väga selgeid mustreid populatsioonidevaheliste erinevuste põhjustest ning immuunvastuse ja ülejäänud elukäiguomaduste vahelistest lõivsuhetest. Erinevate liikide puhul ilmnes erinevaid seoseid. Arvestades populatsioonide vaheliste erinevuste uurimise tähtsust evolutsioonilisest ja rakenduslikust seisukohast, on bakalaureuse töö autori hinnangul vaja immuunökoloogiat populatsiooni tasemel jätkuvalt edasi uurida, kasutades erinevaid liike ja pidades silmas, et immuunvastuse tugevuse hindamiseks tuleb mõõta paralleelselt rohkem kui ühte parameetrit.

Kokkuvõte

Töös anti ülevaade immuunökoloogia-alastest uurimustest putukatel, mis käsitlesid populatsioonidevahelisi erinevusi. Putuka populatsioonides esinevate erinevuste põhjused immuunsuses aitavad aru saada, kuidas erinevates piirkondades on biotilised ja abiotilised mõjud kujundanud evolutsioonis erineva vastupanuvõime ja lõivsuhted teiste kohasuse tunnustega. Eesmärk oli leida, kas putuka populatsioonide vahel esinevad erinevused immuunvastuse tugevuses ja millega erinevust kõige sagedasemalt seostatakse. Refereeritud artiklites käsitleti liblikaliste, kahetiivaliste, sihktiivaliste, mardikaliste, kiililiste ja kiletiivaliste seltsi kuuluvate liikide populatsioone. Analüüsitud 21 artiklist leiti 15 korral erinevused immuunvastuse tugevuses, kuuel juhul erinevuseid ei ilmnenud. Kõige sagedasema põhjusena toodi immuunvastuse erinevustes populatsioonide vahel välja parasiteerituse erinevust piirkondades. Kõrgem parasiteeritus või suurem süstitud doos kunstlikke võõrkehasid putuka kehaõnde korreleerus tugevama mõõdetud immuunvastusega. Kolmes artiklis leiti, et immuunvastus on tugevam lõunapoolsetelt laiuskraadidelt pärit populatsioonides, mis korreleerus hästi ka kõrgema parasiitide arvuga lõunapoolsetel laiuskraadidel. Erinevuste mitteesinemist seostati eelkõige mittesobiva parameetri või mõõtmisvigadega.

Immuunfunktsiooni ja ülejäänud isendi kohasust mõjutatavatest elukäiguomadustest uuriti kõige sagedamini seost kehasuuruse, kasvukiiruse ja järglaste saamise edukuse vahel. Immuunfunktsiooni ja kehasuuruse vahel leiti nii positiivseid kui ka negatiivseid korrelatsioone. Kiirem kasvukiirus oli kahel juhul seotud tugevama immuunvastusega. Refereeritud artiklites ilmnes nii positiivne kui ka negatiivne sõltuvus järglaste saamise edukuse ja immuunreaktsiooni tugevuse vahel. Leiti negatiivse sõltuvus valgusisaldusega Austraalia rändrohutirtsudel ja kõrgem suremus ühel liigil liidrikel, kellel oli suurem fenooloksüdaasi aktiivsus. Analüüsitud artiklites esinenud nii positiivsed kui ka negatiivsed sõltuvused viitavad sellele, et immuunvastuse ja teiste elukäiguomaduste vaheliste lõivsuhte esinemine populatsiooni tasemel on jätkuvalt uurimist vajav valdkond immuunökoloogias. Sealjuures oleks oluline kasutada erinevaid liike ja pidada silmas, et immuunvastuse tugevuse hindamiseks tuleb mõõta paralleelselt rohkem kui ühte parameetrit.

Summary

Among-population variation in traits of ecological immunology by the example of insects

The present work reviews papers that report among-population variation in traits of ecological immunology. Matters of differences among insects populations helps to understand how abiotic and biotic factors have influenced populations to gain different specific immune responses and trade-offs in evolution. The aim was to find out whether there is existing variation between the populations of the insects in the strength of the immune response, and to which is the variation most often associated. In previous reviewed articles dipteran, orthopteran, beetle, odonate and hymenopteran species were used. In 15 cases out of 21 the variation was revealed, in six cases not. Most frequently the variation in selection pressure by parasites between collection sites was explained as cause of variation in immune response between insect populations. Higher levels of parasitism or higher injected dose of artificial foreign bodies to insect body cavity was strongly correlated to the higher measured immune response. There was also one negative correlation. Three articles found that insects have a stronger immune response in the southern populations, which correlated well with higher levels of parasitism at lower latitudes. If variation did not exist it was justified with unsuitable immunological parameter or uncertainties at estimates.

In reviewed articles, body size, growth rate and fecundity were the most frequently studied trade-offs between immunity and other fitness-related traits. Both, positive and negative correlation was found between body size and immunity. A faster growth was related to a stronger immune response the in two cases. Between the strength of the immune response and fecundity again as well as positive as negative correlation revealed. Also, negative correlation between protein level and immunity was found in populations of Australian plague locust (*C. terminifera*). Mortality was higher in sedge sprite (*N. irene*) populations where higher phenoloxidas activity was measured. Revealed positive and negative correlations indicate thath much about trade-offs between immunity and other life-history traits are jet unknown and need further investigation and several immunological parameters should be investigated concurrently.

Tänuavaldused

Tänan enda juhendajat, Hendrik Meistrit, kannatliku meele, mõistva suhtumise ja asjatundliku abi eest. Tänan Toomas Tammarut täiendavate nõuannete eest. Tänan Kristiina Kaske keelelise kontrolli eest. Lisaks tänan kõiki häid sõpru, kes mulle peavarju jagasid ning elektri ja interneti ligipääsu võimaldasid.

Kasutatud kirjandus

- Adamo, S. 2004. How should behavioural ecologists interpret measurements of immunity? *Anim. Behav.* **68**: 1443–1449.
- Altizer, S.M. 2001. Migratory behaviour and host – parasite co-evolution in natural populations of monarch butterflies infected with a protozoan parasite. *Evol. Ecol.* **3**: 611–632.
- Bergvinson, D. & García-Lara, S. 2004. Genetic approaches to reducing losses of stored grain to insects and diseases. *Curr. Opin. Plant Biol.* **7**: 480–485.
- Brunner, F.S., Schmid-Hempel, P. & Barribeau, S.M. 2013. Immune Gene Expression in *Bombus terrestris*: Signatures of Infection Despite Strong Variation among Populations, Colonies, and Sister Workers. *PLoS One* **8**. e68181.
- Cornet, S., Biard, C. & Moret, Y. 2009. Variation in immune defence among populations of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Oecologia* **159**: 257–269.
- Cory, J.S. & Myers, J.H. 2009. Within and between population variation in disease resistance in cyclic populations of western tent caterpillars: A test of the disease defence hypothesis. *J. Anim. Ecol.* **78**: 646–655.
- Crawford, J.E., Bischoff, E., Garnier, T., Gneme, A., Eiglmeier, K., Holm, I., *et al.* 2012. Evidence for population-specific positive selection on immune genes of *Anopheles gambiae*. *G3 (Bethesda)*. **2**: 1505–19.
- De Block, M., Slos, S., Johansson, F. & Stoks, R. 2008. Integrating life history and physiology to understand latitudinal size variation in a damselfly. *Ecography (Cop.)*. **31**: 115–123.
- Doums, C. & Moret, Y. 2002. Senescence of immune defence in *Bombus* workers. *Ecol. Entomol.* **27**: 138–144.
- Fearon, D. 1997. Seeking wisdom in innate immunity. *Nature* **388**: 323–324.
- Frank, S. a. 2000. Specific and non-specific defense against parasitic attack. *J. Theor. Biol.* **202**: 283–304.
- González-Santoyo, I. & Córdoba-Aguilar, A. 2012. Phenoloxidase: A key component of the insect immune system. *Entomol. Exp. Appl.* **142**: 1–16.
- Graham, R.I., Deacutis, J.M., Simpson, S.J. & Wilson, K. 2015. Body condition constrains immune function in field populations of female Australian plague locust *Chortoicetes terminifera*. *Parasite Immunol.* **37**: 233–241.
- Green, D.M., Kraaijeveld, a. R. & Godfray, H.C.J. 2000. Evolutionary interactions between *Drosophila melanogaster* and its parasitoid *Asobara tabida*. *Heredity (Edinb)*. **85**: 450–458.

- Guernier, V., Hochberg, M.E. & Guégan, J.F. 2004. Ecology drives the worldwide distribution of human diseases. *PLoS Biol.* **2**: 740–746.
- Iserbyt, A., van Gossum, H. & Stoks, R. 2012. Biogeographical survey identifies consistent alternative physiological optima and a minor role for environmental drivers in maintaining a polymorphism. *PLoS One* **7**. e32648.
- Kaunisto, K.M. & Suhonen, J. 2012. Parasite burden and the insect immune response: interpopulation comparison. *Parasitology* **140**: 87–94.
- Klemola, T., Klemola, N., Andersson, T. & Ruohomäki, K. 2007. Does immune function influence population fluctuations and level of parasitism in the cyclic geometrid moth? *Popul. Ecol.* **49**: 165–178.
- Kurtz, J., Klappert, K., Schneider, W. & Reinhold, K. 2002. Immune defence, dispersal and local adaptation. *Evol. Ecol. Res.* **4**: 431–439.
- Lazzaro, B.P., Flores, H. a, Lorigan, J.G. & Yourth, C.P. 2008. Genotype-by-environment interactions and adaptation to local temperature affect immunity and fecundity in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Pathog.* **4**: 1–9.
- Lavine, M. & Strand, M. 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **32**: 1295–1309.
- Lochmiller, R.L. & Deerenberg, C. 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos* **88**: 87–98.
- Loof, T.G., Schmidt, O., Herwald, H. & Theopold, U. 2011. Coagulation systems of invertebrates and vertebrates and their roles in innate immunity: the same side of two coins? *J. Innate Immun.* **3**: 34–40.
- Marmaras, V.J. & Lampropoulou, M. 2009. Regulators and signalling in insect haemocyte immunity. *Cell. Signal.* **21**: 186–195. Elsevier Inc.
- Medzhitov R, Janeway CA Jr. 1997. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.* **9**: 4–9
- McNamara, K.B., Wedell, N. & Simmons, L.W. 2013. Experimental evolution reveals trade-offs between mating and immunity. *Biol. Lett.* **9**: 20130262.
- Nappi, a J. & Ottaviani, E. 2000. Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates. *BioEssays* **22**: 469–480.
- Oerke, E. C. & Dehne, H.-W. 2004. Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Prot.* **23**: 275–285.
- Ots, I., Freitak, D. & Vanatoa, A. 2005. Expression of immunity and general condition in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae), in relation to origin and gender. *Entomol. Sci.* **8**: 173–178.

- Rolff, J. & Reynolds, S.E. 2009. *Insect Infection and Immunity*. Oxford University Press, United States. 1-9.
- Rolff, J. & Reynolds, S.E. 2009. *Insect Infection and Immunity*. Oxford University Press, United States. 69-85.
- Sadd, B.M. & Schmid-Hempel, P. 2006. Insect Immunity Shows Specificity in Protection upon Secondary Pathogen Exposure. *Curr. Biol.* **16**: 1206–1210.
- Schmid-Hempel, P. 2005. Evolutionary ecology of insect immune defenses. *Annu. Rev. Entomol.* **50**: 529–551.
- Schmid-Hempel, P. 2006. Parasitism and life history in social insects. *Life Cycles Soc. Insects Behav. Ecol. Evol. V. E. Kipyatkov (Ed.), St. Petersburg. Univ. Press. St. Petersburg*, 37–48.
- Seiter, S. & Kingsolver, J. 2013. Environmental determinants of population divergence in life-history traits for an invasive species: climate, seasonality and natural enemies. *J. Evol. Biol.* **26**: 1634–1645.
- Seiter, S., Ohsaki, N. & Kingsolver, J. 2013. Parallel invasions produce heterogenous patterns of life history adaptation: rapid divergence in an invasive insect. *J. Evol.* **26**: 2721–2728.
- Sheldon, B.C. & Verhulst, S. 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends Evol. Ecol.* **11**: 317–321.
- Sideri, M., Tsakas, S., Markoutsas, E., Lampropoulou, M. & Marmaras, V.J. 2008. Innate immunity in insects: Surface-associated dopa decarboxylase-dependent pathways regulate phagocytosis, nodulation and melanization in medfly haemocytes. *Immunology* **123**: 528–537.
- Siva-Jothy, M.T., Moret, Y. & Rolff, J. 2005. *Insect Immunity: An Evolutionary Ecology Perspective*. *Advances in Insect Physiology* **32**: 1-48.
- Smilanich, A.M. & Dyer, L. a. 2012. Effects of banana plantation pesticides on the immune response of lepidopteran larvae and their parasitoid natural enemies. *Insects* **3**: 616–628.
- Suhonen, J., Honkavaara, J. & Rantala, M.J. 2010. Activation of the immune system promotes insect dispersal in the wild. *Oecologia* **162**: 541–547.
- Zuk, M. & Stoehr, A.M. 2002. Immune defense and host life history. *Am. Nat.* **160 Suppl** : S9–S22.
- Theopold, U., Krautz, R. & Dushay, M.S. 2014. The *Drosophila* clotting system and its messages for mammals. *Dev. Comp. Immunol.* **42**: 42–6.
- Thomas-Orillard, M., Jeune, B. & Cusset, G. 1995. *Drosophila*-host genetic control of susceptibility to *drosophila C* virus. *Genetics* **140**: 1289–1295.

- Tinsley, M.C., Blanford, S. & Jiggins, F.M. 2006. Genetic variation in *Drosophila melanogaster* pathogen susceptibility. *Parasitology* **132**: 767–73.
- Torchin, M.E., Lafferty, K.D., Dobson, A.P., McKenzie, V.J. & Kuris, A.M. 2003. Introduced species and their missing parasites. *Nature* **421**: 628–630.
- Tsakas, S. & Marmaras, V. 2010. Insect immunity and its signalling: an overview. *Invertebr. Surviv. J.* 228–238.
- Vogelweith, F., Dourneau, M. & Thiéry, D. 2013. Geographical variation in parasitism shapes larval immune function in a phytophagous insect. *Naturwissenschaften* **100**: 1149–1161.
- Vogelweith, F., Thiery, D., Moret, Y. & Moreau, J. 2013. Immunocompetence increases with larval body size in a phytophagous moth. *Physiol. Entomol.* **38**: 219–225.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Juhan Heinma,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Populatsioonidevahelised erinevused immunökoloogilistes tunnustes putukatel“, mille juhendaja on Hendrik Meister,

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

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

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

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

Tartus, **21.05.2015**