

**TARTU ÜLIKOOL**  
**ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT**  
**ZOOLOOGIA OSAKOND**  
**ENTOMOLOOGIA ÕPPETOOL**

**Triin Sellis**

**ÜKSIKELULISTE PUTUKATE KÄITUMUSLIKUD  
KAITSEKOHASTUMUSED  
ENTOMOPATOGEENSETE SEENTE VASTU**

Bakalaureusetöö

Juhendaja Robin Gielen

TARTU 2020

## Sisukord

1. Sissejuhatus .....	5
2. Entomopatogeensete seente olemus ja strateegiad .....	7
2.1. Definitsioon ja liigitus .....	7
2.2. Strateegiad .....	8
2.3. Seeneseltside eripärad .....	10
2.3.1. Helekottseenelaadsed.....	10
2.3.2. Putukhallikulaadsed .....	11
2.3.3. Keratiiniseenelaadsed .....	12
3. Putukate kaitsekohastumused .....	13
3.1. Seeneostega kokkupuute vältimine .....	13
3.2. Päevitamine .....	14
3.2.1. Käitumuslik palavik.....	14
3.2.2. Ultraviolettkiirgus.....	16
3.3 Toitumiskäitumine .....	18
3.4. Interaktsioonid teiste putukatega.....	19
3.4.1 Paljunemiskäitumine .....	19
3.4.1 Sotsiaalne käitumine.....	19
3.5 Munemiskäitumine.....	20
4. Putukate eluetappide iseärasused.....	22
3. Kokkuvõte .....	25
6. Summary .....	27
Tänuavaldused.....	29
Kasutatud kirjandus:.....	30

## Infoleht

Putukatel on mitmeid erinevaid parasiite ja patogeene, kes nende elutegevust häirivad. Neist olulise osa moodustavad putukaid nakatavad ehk entomopatogeensed seened. Seeneseltsidel on evolutsiooni käigus kujunenud välja erinevad nakatamisstrateegiad. Nende vastuseks on putukatel kujunenud välja erinevad käitumuslikud kohastumused. Viimaste alla kuuluvad keskkonnatingimuste ära kasutamine, näiteks kehatemperatuuri tõstmine või UV-kiirguse toimel eoste nakatuvuse vähendamine. Kohastumusteks on ka muutused toitumiskäitumises, mis kätkeb endas kasulikimate toidutaimede valikut ning koos toiduga fütokemikaalide hankimist. Samuti on kirjeldatud keha pinna puhastamist: nii enda kui ka teise putuka ning vastsete puhul keskkonnas liikumise läbi. Vältimaks järglaste nakatumist väldivad emased isendid nakatunud isaseid ja juba nakatunud isendid munevad vähem mune ning on passiivsemad. Tööst järeldus, et mitmed kohastumused on universaalsed ja töötavad erinevate seeneseltside vastu. Enim kohastumusi leidub siiski generalistidest helekottseenelaadsete vastu. Teisalt on seente mõju putukatele suhteliselt väheuuritud valdkond. Seega oleks vaja teostada lisauuringuid.

Märksõnad: putukad, entomopatogeensed seened, helekottseenelaadsed, putukhallikulaadsed, keratiiniseenelaadsed, kaitsekohastumused

Insects have various parasites and pathogens that impact their normal life functions. Among them fungi, especially entomopathogenic fungi, form an important proportion. Fungi have evolved various strategies for infection as on the other hand, insects have evolved behavioural mechanisms. Such as bathing in the sun which increases the bodytemperature of the insect or using the UV-radiation to decrease the virulence of conidae. There are also changes in feeding behaviour which includes choosing more useful plants to feed on and consumption of phytochemicals within plants being eaten. In addition some insects exhibit allo- and autogrooming behaviour. This includes also larvae moving in the soil to remove conidae from the cuticule. There are also changes in reproductive behaviour which reduces the risk of infection transmission to offspring. Already infected insects also lay less eggs and are more passive in reproductive behaviour. To conclude, there are several universal adaptations to entomopathogenic fungi, but most adaptations are against Hypocrealean order, which harbours generalist entomopathogens. The effects of entomopathogenic fungi has been underestimated. Further experiments and observations are needed.

Keywords: insects, entomopathogenic fungi, hypocreales, entomophtorales, onygenales, defence adaption

# 1. Sissejuhatus

Putukad on eukarüootide hulgas kõige suurema mitmekesisusega rühm (Gaston, 1991), keda on teada umbes miljon liiki, mis teadlaste hinnangul moodustab ainult 20% kogu klassi liigirikkusest (Stork, 2018). Putukad mängivad äärmiselt olulist rolli ökosüsteemide funktsioneerimises läbi elus ja surnud orgaanilise aine ringluse (Seastedt ja Crossley, 1984; Yang ja Gratton, 2014). Samuti kujundavad putukad süsiniku ja teiste elementide ringluse kiirust. See väljendub näiteks lagunemisprotsesside kiirendamises mullas ja aineringluse kiirendamises taimedes. Lisaks on putukate eksoskeletid lagunemisel olulised kaaliumi, fosfori, magneesiumi ja kaltsiumi allikad (Seastedt ja Tate, 1981; Seastedt ja Crossley, 1984; Yang ja Gratton, 2014), mis muudab putukad elutähtsate elementide reservuaariks ökosüsteemis. Olenemata oma tähtsusest on putukate osa biomassist siiski marginaalne. Metsakõdu kihis on elus ja surnud lülijalgsete hulgaks kogu biomassist vastavalt vaid 1,0% ja 5,2% (Seastedt ja Tate, 1981). Metsa esimeses rindes on lülijalgsete kumulatiivne biomass samamoodi väike moodustades 5% (Schowalter ja Crossley, 1983).

Putukate suurimaks loodusliku suremuse põhjuseks on: kiskjad, parasiidid ja patogeenid (Dicke ja Grostal, 2001). Käesolev töö keskendub neist seenpatogeenidele, kelle rolli on vähe uuritud putukate perspektiivist (Roy jt 2009). Teemaatilised uuringud keskenduvad tihti seene isolaatidele, mis on kõrgelt virulentsed ning potentsiaalsed boipreparaadid majanduslikku kahju tekitavate putukate populatsioonide kontrolli all hoidmiseks (Shah jt 2004). Leidub vähe uuringuid, mis kirjeldavad või vaatlevad putukate kaitsekohastumusi ning need omakorda hõlmavad vaid ühte või paari liiki putukaid ning seeni (Cory ja Hoover, 2006; Hesketh jt, 2010). Põllumajandusliku suunaga uuringute ülekaalu tõttu on teadmised putukate peremees-parasiit suhte evolutsioonilis-ökoloogiliste aspektide kohta puudulikud (Roy jt, 2006; Baverstock jt, 2010; Mora jt, 2017).

Kohastumused ohtude tuvastamiseks on igale liigile selektiivne eelis ning võimaldab hinnata rünnakuohtu ning vastavalt reageerida (Dicke ja Grostal, 2001). Kuna nakatumine töös käsitletud seeneseltsidega on putukale alati letaalne (Hesketh jt, 2010, Boomsma jt, 2014) annab nende vältimine isendile tohutu eelise. Üks energeetiliselt odavamaid aga sealjuures efektiivsemaid viise, kuidas putukad ennast nakatumise eest saavad kaitsta, on käitumuslikud kohastumused (Siva-Jothy, Moret ja Rolff, 2005). Töö eesmärk on leida kuidas putukad ennast erinevate entomopatogeensete seente eest kaitsevad. Kas ja missugused on seosed putukate kaitsemehhanismide ja entomopatogeensete seente nakatamisstrateegiatega? Selleks tuleb aga mõista seenerühmade eripärasid ja nakatumistrateegiaid. Käesolevas töös anname ülevaate

tuntumatest ja enam uuritud entomopatogeensete seente seltsidest ja nende eripäradest ning analüüsime putuka käitumuslike vastuste sobilikkust vastavate seeneseltside vastu. Kuna ühis- ja üksikeluliste putukate võrdluses omab üksikeluliste ühe isendi surm palju suuremat kaalu geenide edasikandumisel kui ühiseluliste puhul, käsitleme käesolevas töös peremehe-parasiidi koevolutsiooni paremaks tõlgendamiseks ainult üksikeluliste putukate kohastumusi.

## 2. Entomopatogeensete seente olemus ja strateegiad

Putukas-seen suhteid on erinevaid ning sugugi mitte kõik pole putukatele kahjulikud. Mõnel erandlikul juhul muutub suhe vastavalt putuka elustaadiumile (Paine, Raffa ja Harrington, 1997). Näiteks seene *Smittium culisetæ* ja kihulaste sugukonda kuuluva liigi *Simulium vittatum* vahel. Vastse staadiumis on suhe kommensalistlik, nälja korral mutualistlik ning valmiku staadiumis jätkub parasiitne. Ehk kui tavatingimustes vastsete elumus ei olenenud seene olemasolust, siis stressiolukorras, näiteks näljas, on seenehüüfide olemasolul seedeüsteemis putukate elumus kõrgem. Arvatavasti varustavad stressitingimustes seened putukat elutähtsate toitainetega (McCreadie, Beard ja Adler, 2005). Omavaheliste suhete mitmekesisuse juures on siiski putukatega seotud entomopatogeensete seente näol tegemist ühe vähim uuritud osaga seente mitmekesisusest (Vega ja Blackwell, 2005).

### 2.1. Definiitsioon ja liigitus

Mõiste entomopatogeenne tähistab täpsemalt neid mikroorganisme, kes on võimelised nakatama elusaid putukaid ja kasutavad neid mingis osas oma elutsüklist peremeesorganismina (Mora, Castilho ja Fraga, 2017). Seened seevastu on erilised patogeendid kuna nakkus lõpeb peremehe surmaga (Hesketh jt, 2010; Anderson, 2013a,b), va erandina selts sitikaseenelaadsed (*Laboulbeniales*) (Roy ja Cottrell, 2008), keda seetõttu käesolevas töös ei käsitleta. Putukaid nakatavad seened jaotatakse kaheks: obligatoorseteks ja fakultatiivseteks entomopatogeenideks, kusjuures suurem osa kuuluvad fakultatiivsete alla (Barelli jt, 2015). Jaotamise kriteeriumiks on kitiinkesta läbistamise võime, sest kitiinkest on putuka parim kaitse nakatumise vastu (Cory ja Hoover, 2006; Boomsma jt, 2014).

Entomopatogeensetest seentest pole halva fossiliseerumise tõttu väga vanu leide (Barbee ja Taylor, 2010). Vanim teadaolev on mardustõlviku (*Ophiocordyceps*) sarnase seene poolt nakatatud kilptäiline, mis pärineb tänapäeva Myanmaril aladelt leitud 100-110 miljoni aasta vanusest merevaigust (Sung, Poinar ja Spatafora, 2008). Hilisemate leidude hulgas on putukhallikulaadsele sarnase seene poolt nakatunud termiidiline (*Isoptera*) ja tänapäeva *Beauveria bassiana* sarnase seene poolt nakatatud sipelgas, mõlemad leiud pärinevad 20-30 miljoni aasta vanusest Dominikaani merevaigust (Poinar ja Thomas, 1984). Molekulaarse kella järgi hinnatakse aga entomopatogeensete seente vanust hoopis suuremaks ulatudes näiteks entomopatogeensete kottseente puhul isegi 1,2 miljardi aastani (Heckman jt, 2001; Barbee ja Taylor, 2010). Entomopatogeensus on tekkinud evolutsiooni käigus mitmel üksteisest

sõltumatul korral (Shah ja Pell, 2003; Humber, 2008). Selle tõenduseks on nende suur varieeruvus, moodustades rohkem kui 700 liiki hõlmava polüfülogeneetilise rühma (Humber, 2008; Araújo ja Hughes, 2016). Putukatel parasiteerivad seened on levinud väga erinevates keskkondades: magevees, mulla, mullapinnal, õhus ja taimedel (Hajek ja Leger, 1994; Cory ja Hoover, 2006; Hesketh jt, 2010). Viimase alla kuulub ka alamgrupp seeni, kes lisaks funktsioneerivad taimede endofüütsete sümbiontidena. Arvatakse, et ühe tuntuma entomopatogeeni, *Metarhizium anisopliae*, eellane arenes taimesümbiontsest vormist ja järkjärgult omandas lisaks putukate nakatamise ja tapmise võime (Barelli jt, 2015). Seda näitab ka suur hulk taimede lagundamiseks vajalike ensüümide olemasolu tänapäevaste entomopatogeeni genoomis (Gao jt, 2011). Ilmselt omandasid seened entomopatogeensuse lisatoitainete, näiteks lämmastiku, saamiseks ning nende vahetamiseks taimedelt saadavates süsivesikute vastu (Barelli jt, 2015). Selliste elutähtsate elementide pärast on putukspetsiifiline parasitism üks efektiivsemaid toitainete hankimise viise seeneriigis (Roy jt, 2006).

Entomopatogeensed seened on taksonoomiliselt mitmekesised ning nende esindajaid võib leida kõigist hõimkondadest, välja arvatud krohmseened (*Glomeromycota*), mis hõlmavad endas ainult mükoriisat moodustavaid alamrühmi (Steinkraus, 2006; Araújo ja Hughes 2016). Kirjeldatud entomopatogeensete seente hulk varieerub vaid mõnest liigist kandseente (*Basidiomycota*) hõimkonnas, sadadeni kottseente (*Ascomycota*) ja putukhallikute (*Entomophthoromycota*) hulgas, kusjuures viimases moodustavad nad ka valdava enamuse kogu seltsist (Spatafora jt 2007; Araújo ja Hughes 2016). Enim uuritud putukaid nakatavad seened leiamegi kahest viimasest hõimkonnast ning neist tähtsaimateks peetakse 4 seltsi: helekottseenelaadsed (*Hypocreales*), keratiiniseenelaadsed (*Onygenales*), putukhallikulaadsed (*Entomophthorales*) ja *Neozygitales* (Shah ja Pell, 2003; Boomsma jt, 2014; Mora, Castillo ja Fraga, 2017). Seltsi *Neozygitales* käesolevas töös ei käsitleta, kuna seltsis leiduvast kolmest perekonnast on põhjalikumalt artikleid ühe kohta, kes nakatab vaid ühiselulisi ripstiivalisi ja lehetäilisi ning lestalisi (Montalva, Luz ja Humber, 2016; Chandler, 2017).

## 2.2. Strateegiad

Entomopatogeensetel seentel (edaspidi EPS) on erinevaid strateegiaid nakatamiseks, levikuks ja ellujäämiseks (Steinkraus 2006). Aeg peremehe nakatumisest uute eoste tekkeni on 3 kuni 20 päeva ning sõltub putuka kehamassist, seeneliigist, eoste tootmise viisist ja keskkonnatingimustest (Hajek jt, 2012). Nakatumise saab jagada kolmeks staadiumiks: peremehesse sisenemine, kasv peremehes ja uute eoste väljutamine (Boomsma jt, 2014; Mora,

Castilho ja Fraga, 2017). Enamus EPS-e sisenevad läbi kutiikula, harvemad on juhud, kus nakatumine toimub läbi seedesüsteemi, näiteks keratiiniseenelaadsete korral (Pell jt, 2001; Roy jt, 2006). Esimene etapp sisenemisel on eoste kinnitumine peremehe kutiikulale. Kutiikula läbistamiseks on vaja mehhaanilist survet (tabel 1) ja lagundavaid bioaktiivseid ühendeid nagu proteaasid, kitinaasid ja lipaasid (Mora, Castilho ja Praga, 2017). Kutiikula läbimise kestus oleneb sellistest kutiikula omadustest nagu paksus ja sklerotiseeritus (Steinkraus, 2006).

Seente erinevad levikustrateegiad hõlmavad mitmesuguste erinevate omadustega, suuruse ja kujuga eoste tootmist ning eoste aktiivset ja passiivset vabastamist (Steinkraus, 2006). Levik toimub kas horisontaalselt: läbi kokkupuute nakatunud organismiga, keskkonnas levivate eoste kaudu (Hesketh jt, 2010) või vertikaalselt ühelt põlvkonnalt teisele. Putukate puhul tähendab vertikaalne enamasti emasputuka kaudu levikut (Baverstock, Roy ja Pell, 2009; Tanada ja Kaya, 1993): patogeenid võivad sattuda emasputukalt munade pinnale (Sanjaya, Ocampo, Caoili, 2013).

Keskkonnatingimused mõjutavad oluliselt eoste tootmist ja vabastamist, levikut ja eoste ellujäämist väljaspool peremeest. Kuna suurem osa eostest ei jõua uue peremeheni või jõuavad nendeni nakatumisvõime kaotanud eosed, toodetakse igas nakatunud peremehes väga suur hulk uusi eoseid (Hajek ja Leger, 1994; Steinkraus, 2006).

Keskkonnatingimustest on oluline mõju suhtelisel õhuniiskusel, päikesekiirgusel, temperatuuril, vihmil ja tuulel. Seeneseltsidel on erinev taluvus keskkonnateguritele, see väljendub näiteks erisugustes temperatuuri- ja niiskusoptimumides (Tabel 1) (Steinkraus 2006). Neist omakorda mõjutab seeni enim suhteline õhuniiskus. Seenpatogeenid vajavad reeglina ellujäämiseks, idanemiseks ja eoste levitamiseks kõrget suhtelist õhuniiskust (Tabel 1) (Steinkraus 2006). Näiteks putukhallikulaadsete esindaja *Zoophtora phalloides* eoste vabanemine ja idanemine toimub ainult 98-100% õhuniiskuse juures (Steinkraus, 2006). Piisavalt kõrge õhuniiskuse võivad tagada ka transpireerivad lehed (Steinkraus, 2006; Cory ja Hoover, 2006).

Tabel 1. Entomopatogeensete seente omadused

Seltsi nimi	Eoste suurus	Eoste temp	Kinnitusstruktuurid	
		opt.		
Helekottseenelaadsed ( <i>Hypocreales</i> )	3-10 $\mu\text{m}^1$	20-30°C <sup>11</sup>	Apressor, lima <sup>13</sup>	
Putukhallikulaadsed ( <i>Entomophthorales</i> )	15-40 $\mu\text{m}^1$	10-25 °C <sup>7,8,11</sup>	Lisa rakuseina kihid, lima <sup>2</sup>	
Keratiiniseenelaadsed ( <i>Onygenales</i> )	3-8 $\mu\text{m}^{2,6,12}$	24-27°C <sup>12</sup>	Nakatumine toimub läbi kõhupiteeli <sup>2</sup>	
Seltsi nimi	Elutsükel	Idanemiseks vajalik suhteline õhuniiskus	generalist/spetsialist	Eoste levik
Helekottseenelaadsed	Aeglane, palju toksiine <sup>4,5</sup>	96-100% <sup>10</sup>	generalistid <sup>2</sup>	Passiivne <sup>2</sup>
Putukhallikulaadsed	Kiire, vähe toksiine <sup>4,5</sup>	98-100% <sup>3</sup>	spetsialistid <sup>2</sup>	Aktiivne ja passiivne levik <sup>2</sup>
Keratiiniseenelaased	Ei leidnud kirjandust	>80%	spetsialistid <sup>2</sup>	Passiivne <sup>2</sup>

1 - Humber, 1997, 2 - Boomsma jt, 2014, 3 - Steinkraus, 2006, 4 – Pell jt, 2001, 5 - Hesketh jt, 2010, 6 - Vandenberg, 1980, 7 - Glare, 1986, 8 - Gul, Saeed ja Khan, 2014, 9 - Montalva jt, 2018, 10 - Arthurs ja Thomas, 2001, 11 - Chandler, 2017, 12 - Dukik jt, 2017, 12 - Liang jt, 2000, 13 - Schreiter jt, 1994

## 2.3. Seeneseltside eripärad

### 2.3.1. Helekottseenelaadsed

Putuka välispinnal areneb suur hulk,  $10^7$ - $10^9$  (Arthurs ja Thomas, 2001), väikeseid eoseid (tabel 1), mis levivad õhuvooludega (Humber, 1997; Boomsma jt, 2014). Täpne eoste hulk sõltub putuka liigist ja suurusel (Arthurs ja Thomas, 2001). Helekottseenelaadsete eosed kinnituvad

spetsiifiliste proteiinide, apressorite ning lima abil (Schreiter jt, 1994). Töös käsitletud seeneseltsidest toimub helekottseenelaadsete eoste areng kõige aeglasemalt ulatudes päevadest nädalatesse (Pell jt, 2001; Hesketh jt, 2010). Schreiter jt, (1994) läbi viidud katses hakkasid enamuse eoseid idanema alles pärast 48 tunni möödumist. Lisaks toodavad nad võrreldes teiste seentega rohkem sekundaarseid metaboliite. Ressurss on suunatud võimalikult suure hulga eoste ning toksiinide tootmisele ning erinevaid eoseid kaitsevad või aktiivset levitamist soodustavad omadused puuduvad (Hesketh, 2010 ja Boomsma jt, 2014). See tähendab, et väikesed ja kerged eosed levivad passiivselt, tuule abil (Steinkraus, 2006). Tegemist on generalistidega. Sama liigi esindaja võib nakatada väga erineva liigilise kuuluvusega putukaid (Boomsma jt, 2014; Gul jt, 2014; Mora jt, 2017). Putuka sees toimub levik hüüfidega kudesid hõivates (Schreiter jt, 1994).

### **2.3.2. Putukhallikulaadsed**

Putukhallikulaadsed toodavad eelnevaga võrreldes vähem eoseid, ca  $10^4$  (Pell jt, 2001, Hesketh jt, 2010), mistõttu on eoste kõrge edukus olulisem kui helekottseenelaadsetel (Pell jt, 2001; Roy jt, 2006). Suured eosed kinnituvad kutiikulale lisarakuseinte abil, millele aitab mõnikord kaasa lima tootmine (Boomsma jt, 2014) ning nakatamisprotsess toimub erinevalt helekottseenelaadsetest kiiresti (Schreiter jt, 1994). Mitmed putukhallikulaadsete alla kuuluvad liigid toodavad eriti suuri (suuremad kui  $40 \mu\text{m}$ ) globulaarseid eoseid, millel on väga paks rakusein. See annab parema vastupidavuse rasketele keskkonnatingimustele. Eosed vabastatakse passiivselt lagunevast surnud putukast ja satuvad sealt mulda või taimestikule, kust korjab eose üles uus peremees (Boomsma jt, 2014).

Putukhallikulaadsete elutsükkel on helekottseenelaadsetest tunduvalt kiirem, vaid mõne päeva pikkune (Hesketh jt, 2010). Nad panustavad ka rohkem oma eoste levitamiselle. Levik toimub enamasti aktiivselt mehhanismidega, mis vabastavad eoseid õhku. Eosed on paremini kaitstud ning mitmed seened manipuleerivad enne peremehe surma putuka närvisüsteemiga (Boomsma jt, 2014) sundides neid ronima kõrgematele struktuuridele, mis tagab suurema leviku potentsiaali (Steinkraus, 2006). Putukhallikulaadsed toodavad vähem sekundaarseid metaboliite ning putuka kahjustamine toimub peamiselt nakatumise lõppfaasis kudedesse tungimise ja seal kasvamise läbi (Boomsma jt, 2014). Putukhallikulaadsed levivad putuka sees pärmilaadsete protoplastidega, mis aitavad neil ka enda tegevust peita (Butt, Beckett ja Wilding, 1981). Nõnda ei vähene peremehe poolne toidu omastamine, mida on täheldatud teiste EPS-idega nakatunud putukatel ning seen saab seega maksimaalse koguse toitaineid. Seda võib

siduda seene strateegiaga häirida putuka elutegevust võimalikult vähe kuni nakatamise viimaste staadiumiteni, mil liialt palju kudesid on seene poolt häiritud. Selliselt toimides jõuab nakatatud putukas kasvada suuremaks ja saada rohkem järglasi (Funk, Ramoska ja Bechtel 1993). Tegemist on spetsialistidega, kellel on üks peremeesliik või taksonoomiliselt lähedased peremeesliigid (Boomsma jt, 2014).

### **2.3.3. Keratiiniseenelaadsed**

Keratiiniseenelaadsetel toimub nakatumine läbi seedesüsteemi (Mora jt, 2017). Kõhupiteeli läbistamise protsessi on märkimisväärselt keerulisem uurida, mistõttu on ka teadmised sellest vähesed (Boomsma jt, 2014). Teisalt on keratiiniseenelaadsed tänu oma eripärale suhtelise õhuniiskuse osas paremal positsioonil, kuna putuka sees on püsivalt soodsad olud. Neile on ohtlikud ainult seedenõred, mis võivad hävitada või kahjustada eoseid. Spetsialistidest keratiiniseenelaadsed on mesilaste parasiidid, sealhulgas üksikeluliste nagu näiteks mesilase *Megachile rotundata* (Boomsma jt, 2014). Sarnaselt helekottseenelaadsetele levivad keratiiniseenelaased putuka sees hüüfide kasvamisega läbi lihaskiudude (Schreiter jt, 1994).

### 3. Putukate kaitsekohastumused

Peremehe ning parasiidi vahel toimub pidev koevolutsoon, kus ühe osapoole adaptatsioonid põhjustavad uusi adaptasioone teises osapooles (Joop ja Vilcinskas, 2016). Enese kaitsmine on peremehele kulukas. See väljendub suurenenud ressursside omastamises või ressursside jaotamise muutustes. Kuigi suurenenud ressursside kasutamist organismis saab korvata suurema keskkonnast hankimise ehk toitumisega, pole see toidu piiratud tingimustes alati võimalik (Boomsma jt, 2014). Seega on omavahel seotud peremehe suurus, eluiga ning kaitsemehhanismide hulk ja efektiivsus (Brace jt, 2017). Putukate kiire põlvkondade vaheldumine ja hästijälgitav ressursside allokatsioon muudab nad ideaalseks organismirühmaks koevolutsiooni uurimisel (Roy jt, 2006).

#### 3.1. Seeneostega kokkupuute vältimine

Töös käsitletud putuka kehasse tunginud EPS-id põhjustavad alati putuka surma (Hesketh jt, 2010; Anderson jt, 2013a,b). Sellest võime järeldada, et putukate jaoks efektiivseim kaitse on EPS-idega nakatumise vältimine. Putukas saab selektiivse eelise, kui suudab võimalikku nakatumist tuvastada ja sellele käitumuslikult reageerida. Putukate käitumine mõjutab seda, kas kontakt seenpatogeeni ja putuka vahel toimub. Muutustega oma käitumises suurendavad või vähendavad putukad nakatumistõenäosust (Cory ja Hoover, 2006).

Pikka aega arvati, et putukad tajuvad patogeene alles pärast kontakti (James ja Xu, 2011), kuid on piisavalt katselisi tõendeid tõestamaks vastupidist (Villani jt, 1999; Meyling ja Pell, 2006). Õielutiklaste (*Anthocoridae*) alla kuuluva *Anthocoris nemorum*'i isendid veetsid keskmiselt puhtal kontroll-lehepoolel 191,2 sekundit ja *Beauveria bassiana* eostega nakatatud lehepoolel keskmiselt 8,5 sekundit. Ühtlasi olid putukad väga vastumeelsed töödeldud lehepinnale minemisele, mõned isendid lendasid kokkupuute vältimiseks (Meyling ja Pell, 2006). Ka mulla lüljalgsed suudavad tuvastada ja seeläbi vältida EPS-e mullas (Villani jt, 1999). Näiteks mardikalise *Popilia japonica* tõugud vältisid mulda, mis oli nakatud *M. Anisopliae* mütseeliga, kuid eoseid nad tuvastada ega vältida ei suutnud (Villani jt, 1994). Samamoodi vältisid *M. anisopliae* mütseeli mullas sõnnikumardika tõugud ja täiskasvanud isendid. Arvatavasti olid eemaletõukavaks ühendid, mida seen eritas (Hajek ja Leger, 1994). Vältimist võib täheldada ka kaerasoril. Kui mullaprofili ülemised kihid on seenega nakatunud, võib seal näha väga iseloomulikke tunnelid, mille kuju on tingitud vältimisest (Villani jt, 1999). Seevastu kääbusherilaste hulka kuuluv *Cephalonomia tarsalis* ei suutnud laboritingimustes *B. bassiana*'t

tuvastada, kuigi on talle vastuvõtlik, mis võis olla põhjustatud putuka ebaloomulikust käitumisest tehistingimustes (Lord, 2001).

Fernandez jt (2001) täheldasid, et putukate nakatumist ja seeläbi suremust mõjutab ka nakatajaga kokkupuute viis. Katseliselt oli suremus suurim eoste otsesel pealepritsimisel ulatudes 76%, samal ajal kui kokkupuutel läbi substraadi oli suremus vaid 34%. Samuti toimus eoste edasine areng kiiremini neis putukates, keda nakatati otse värskete eoste suspensiooniga (Fernandez jt, 2001). Kuigi risk nakatuda on suurem värskete õhus lenduvate eostega, ei saa unustada, et putukate jaoks on kriitiliselt oluline vältida nakatumist üldiselt (Meyling ja Pell, 2006). Kord juba haigestunud putukas on suuteline küll patogeeni elutsükli aeglustada, kuid mitte täielikult nakkusest vabaneda (Hesketh jt, 2009). Putuka kasuks võivad ka keskkonnatingimused seeneoste virulentsuse taset alandada, võites putukale niimoodi eluaega juurde (Fuxa ja Tanada, 1987; Steinkraus, 2006).

## **3.2. Päevitamine**

Üks viise entomopatogeensete seentega võitlemiseks on päevitamine. Selle võib jagada omakorda kaheks esinevaks osaks, käitumuslik palavik ehk termoregulatsioon ja ultraviolettkiirgusest tulenev mõju.

### **3.2.1. Käitumuslik palavik**

Käitumuslikuks palavikuks loetakse keskkonna abil kehatemperatuuri tõstmist nakatunud putukates üle tavalise võrreldes nakatumata putukatega (Blanford ja Thomas, 2001; Moore, 2002; Anderson jt, 2013a,b).

Kõrgema temperatuuri saavutamiseks otsivad putukad koha oma elukeskkonnas, mis on soojem, näiteks päikesele paremini avatud. Selle tulemuseks on patogeeni aeglustatud kasv. Käitumuslik palavik ei päästa teadaolevalt putukat surmast (Blanford ja Thomas, 2001), vaid pikendab eluiga piisavalt, et anda võimalus produtseerida elujõulisi järglasi (Roy jt, 2006). Siin tekib omakorda järgmine oht: võib toimuda patogeeni vertikaalne edasikanne järglastele. Käitumusliku palaviku tekitamine on putukale energeetiliselt kulukas, sest hoolimata passiivsest olekust päevitamise ajal, ei saa putukas samal ajal toituda. Seetõttu pole kindlasti tegemist peremehele kõige optimaalsema mehhanismiga. Seevastu on see väga levinud kaitsemehhanism EPS-ide vastu (Moore, 2002; Roy jt, 2006).

Eriti hästi on käitumuslik palavik uuritud harilikul toakärbsel *Musca domestica* (Roy jt, 2006). Esimestel päevadel pärast putukhallikulaadsetega nakatumist püüavad kärbsed saavutada temperatuure üle 40°C, surudes seeläbi patogeeni elutegevuse alla ning võites sellega endale eluaega juurde (Watson, Mullens ja Petersen, 1993). Kalsbeek jt (2001) näitasid oma katsetega, et putukhallikulaadsetega nakatunud kärbsed, kes olid lukustatud külmadesse kohtadesse, surid kahe päeva jooksul. Samal ajal kärbsed, kellele langes päikesevalgust, surid 6-8 päeva jooksul. Lisaks täheldati, et märkimisväärselt suurem hulk värskelt nakatatud kärbsed kogunesid soojalampide juurde. Anderson jt (2013a) kirjeldasid seost helekottseenelaadsete eoste koguse ja päevitamise vahel. Nakatunud kärbsed valisid katseseadme soojemad kohad ning mida suurem oli EPS-i eoste kontsentratsioon putukal, seda soojemat temperatuuri kärbsed eelistasid. Üksiti veetsid nakatunud isendid soojal pinnal pikema aja. Kõrgemad temperatuurid pärssisid kõigi katsealuste seente kolooniate kasvu võrdluses kontrollrühmaga. Anderson jt (2013a,b) leidsid ühtlasi ka, et toakärbsed ei suutnud eostest täielikult vabaneda, küll aga oma eluaega pikendada ning tänu sellele rohkem mune muneda.

Tirtslaste sugukonda kuuluva *Locusta* perekonna esindajad, kes varahommikul olid rohukõrte tippudes, liikusid õhutemperatuuri tõustes mullapinnale päevitama, kuni nende kehatemperatuur tõusis 37-40°C. Seejärel muutusid nad aktiivseks ning toitunud rohus erinevatel kõrgustel. Ka sama sugukonna perekonna *Dociostaurus* nakatanud esindajate eelistatud kehatemperatuur oli 38-40°C. Saavutatud temperatuuri suutsid putukad säilitada päikesepeaistelise ilma korral kuni mitu tundi. Üksiti elasid kauem need nakatatud tirtslased, kellel lubati loomulikku käitumist võrreldes konstantsel temperatuuril hoitud isenditega. 30 päeva möödudes oli esimeste suremus 43% kusjuures teistel oli suremus seitsme päeva möödudes 100% (Anderson jt, 2013b).

Samasugust mõju on täheldatud ka mitmetes teistes putukataksonites, ent pole piisavalt andmeid järeldamiseks, kas tegemist on eesmärgipärase aktiivse tegevusega või lihtsalt tavalise käitumisega kaasneva nähtusega (Roy jt, 2006).

Putukad, kelle keha on väike ning soojeneb kiiresti, taluvad suuri ja suhteliselt kiireid temperatuuri kõikumisi ning üllatavalt kõrgeid temperatuure. Nad suudavad päevitamisega tõsta kehatemperatuuri lausa 40°C-ni. Nagu tabelist 1 on näha, ei ole ühtegi käsitletud patogeense seene seltsi liikide temperatuuri optimum üle 30°C. Seega võime eeldada termoregulatsiooni tugevat positiivset mõju putukale. Kuna tegemist on putukale ajakuluka tegevusega, on kaitsemehhanism ilmselt edukam patogeeni puhul, kelle elutsükkel on aeglasem: muutes olusid ebasobivamaks, aeglustub seene elutsükkel veelgi (Roy jt, 2006).

Seega teades, et helekottseenelaadsed on väga aeglase arenguga, toimiks antud kohastumus nende puhul eriti hästi. Chandler (2017) näitas, et, seene nakatumisvõime langeb tugevalt temperatuuri kaugenedes optimumidest. Järelikult toimib kohastumus väga hästi ka putukhallikulaadsete vastu, kelle temperatuurioptimum on 10-25°C. Keratiiniseenelaadsetele on potentsiaalselt mõju madalaim tänu nakatumise toimumisele putuka sees ning kõrgemale temperatuurioptimumile.

### 3.2.2. Ultraviolettkiirgus

Valgusel on mõju nii entomopatogeensete seente reproduktsioonile kui ka eoste elujõulisusele (Steinkraus, 2006). UV-kiirgus on oluline seeni pärssiv keskkonnategur (Bateman jt, 1993). Ühtlasi on erinevad seeneliigid ja isolaadid UV-kiirgusele erineva vastupidavusega (Fargues jt, 1996).

Katses kapsakoi (*Plutella xylostella*) vastsetega ei toimunu mingeid muutusi putukhallikulaadse *Zoophtora radicans* nakkuse arengus peale 4 tundi parasvöötmele omase suviste valgustingimuste käes hoidmist. Samas kui 30. laiuskraadile omased looduslikud valgustingimused vähendasid sarnaselt Farguese jt (1996) katsele seene elujõulisust (Furlong ja Pell, 1997). Helekottseenelaadse seene *B. bassiana* erinevatest kliimavöötmetest pärit isolaatidel polnud ühe tunni jooksul vastupidavuses valgusele olulisi erinevusi. Sama seltsi esindaja *P. fumosoroseus* erinevatest kliimaatilistest piirkondadest pärit isolaatidest on soojemate piirkondade isolaadid vastupidavamad. Kuid seda vaid tunniajalise kunstliku looduslikke tingimusi matkiva valguse käes olemisel. Kui samu katsealuseid hoiti kaks tundi kunstiliku valguse käes, erinevus kadus (Fargues jt, 1996).

Eose omadused nagu suurus ja kuju mõjutavad UV-kiirgusele avatud pinna hulka ning seeläbi taluvust ning UV-kiirguse kahju ulatust. Nii oli näiteks suuremate ja kepikese kujuliste eostega *A. nidulas* vastupidavam UV-le kui väiksemate ja ümmarguste eostega *A. fumigatus* (Nascimento, 2010). Eostes leiduvad pigmendid kaitsevad neid UV-kiirguse eest.

Oluline on välja tuua, et UV-kiirgus omab mõju vaid nakatamise faasile, see tähendab, et oluliselt võib langeda eoste nakatamisvõime ja seeläbi väheneda nakatumine ja suremus putukapopulatsioonis (Furlong ja Pell, 1997; Fargues jt, 1996; Nascimento jt, 2010). Juba toimunud nakatumisele hetketeadmiste kohaselt enam mõju pole (Nascimento jt, 2010). Samuti on leitud seos seene peremehe generalismi ja päikesekiirguse taluvuse osas. Seened, kelle peremeeste ring on kitsas, näiteks putukhallikusaadsed, on ka UV-kiirguse osas tundlikumad

ning vastupidi, generalistid nagu helekottseenelaadsed on ka UV-kiirguse kahjulikule mõjule üleüldiselt vastupidavamad (Fargues jt, 1996; Nascimento, 2010; Fernandes jt, 2015).

Ei saa välistada, et tegemist on spetsialistide parema sünkroonsusega oma peremehega. Putukhallikulaadsete aktiivsem strateegia vähendab aega, mis kulub eosel uue peremehe ni jõudmiseks ning keskkonnatingimuste kahjulike mõjude käes viibimist. Pealegi võib siin avalduda erinevate strateegiate kasutegur putukate kohastumuse vastu. Enam edukasse levikusse panustavad putukhallikulaadsete eosed võiksid suurema tõenäosusega jõuda otse putukale. Suure hulga eoste tootmissesse panustavad helekottseenelaadsed saavad aga tänu suuremale UV-kiirguse taluvusele lubada endale ka läbi vahepindade putukani jõudmist. Samuti on mõju kiiresti nakatavatele putukhallikulaadsetele on ilmselt vähemoluline ning madalam, kuna kultiikulale kinnitumine ning kitiinkesta läbistamine toimub kiiremini kui aeglasema elutegevusega helekottseenelaadsetel.

Keratiiniseenelaadsed, kelle nakatamistegevus toimub putuka sees on juba nakatumise toimumise asukoha poolest paremini antud kaitsekohastumuse eest kaitstud.

Kui temperatuurioptimumidest ning suhtelise õhuniiskuse optimumidest selgus, et käesolevas töös käsitletud seeneseltsid on sobivaimad parasvöötmelistesse tingimustesse (tabel 1), siis sama võime öelda UV-kiirguse osas, kuna parasvöötmes on intensiivsus ja mõju väiksem, kui troopikas. Üksiti on katseliselt paremaid tulemusi troopilistelt isolaatidelt, kes puutuvad kahjuliku teguriga intensiivsemalt kokku. Lühiajaline kiirgus võib konkreetsete liikide, näiteks helekottseenelaadse *M. flavoviride*, esindajatel hoopis idanemist parandada, ent pikajalisel, st rohkem kui tund kestval ärrituse korral idanevus siiski langeb. Seega on oluline, et resistentsemate liikide puhul kestaks päevitamine positiivse mõju saavutamiseks piisavalt kaua. Ühtlasi on ultravioletti kiirguse kahjulik mõju suurem spetsialistidele kui generalistidele (Fargues jt, 1996).

### 3.3 Toitumiskäitumine

Taimede omadused mängivad putukate, eriti herbivooride, nakatumises entomopatogeensete seentega olulist rolli. Taimed, herbivoorsed putukad ja seened moodustavad keerulise suhte (Seastedt ja Crossley, 1984; Cory ja Hoover, 2006) kus ka taim on oluline mõjutaja, sealjuures võib toime putukale olla nii negatiivne kui ka positiivne.

Kõige otsesem viis mõjutamiseks on lehe pinna kaudu (Cory ja Hoover, 2006). Näiteks mõjutab lehe vahasus seeneoste nakatumisvõimet. Õhema vahakihiga põldherne (*Pisum sativum*) taimedel oli lehetäide (*Acyrtosiphum pisum*) nakatumine helekottseenelaade seenega *Pandora neoaphidis* kõrgem kui sama sordi tugevama vahakihiga taimedel (Duetting jt, 2003). Vaha mõjutab eoste elumust ja nakatamisvõimelisust lehe pinnal (Duetting jt, 2003). Ferrari jt (2004) leidsid, et erinevatel taimedel kasvatatud lehetäid omasid erinevat vastupidavust EPS-idele. Aasristikul (*Trifolium pratense*) kasvanud putukad olid seene *P. neoaphidis* vastu väga resistentsed, aga soo-nõiahambal kasvanud isendid vastuvõtlikumad (Ferrari ja Godfray, 2003).

Erinevus võib tuleneda ainetest, mida putukas taimest omastab. Fütokemikaalid vähendavad putuka seedesüsteemis patogeenide nakatavust, kui seal eostega seostuvad. See omab otsest mõju keratiiniseenelaadsete vastu. Ent putukale positiivne mõju on olemas ka putukhallikulaadsete suhtes (Raymond jt, 2005). Taimede sekundaarsed metaboliidid mõjutavad putuka kasvu ja elutegevust ning tõstavad putukate vastupidavust erinevatele parasiitidele ja patogeenidele. Taimemürkide omistamist peetakse profülaktiliseks käitumiseks ning on kirjeldatud nii nakatunud kui ka nakatumata putukatel. Samuti on täheldatud terapeutilist toitumist ning suurenenud toitumist pärast nakatumist erinevate parasiitidega, mida võib üle kanda ka seentele (Hajek ja Shapiro-Ilan, 2018).

Erinevad taimeliigid varjavad erinevalt seeneoseid ohtliku UV-kiirguse eest. Näiteks hariliku külmavaksiku (*Operopthera brumata*) isendid nakatusid rohkem Sitka kuusel (*Picea sitchensis*) kui harilikul tammel (*Quercus robur*) või kanarbikul (*Calluna vulgaris*). Erinevus tuleb taimede erineval hulgal varju pakkumisest (Raymond jt, 2005). Raymond jt (2005) katses pakkusid kuused ning nende naaberpuud palju rohkem varju, kui teised katses olnud taime- ja puuliigid. Ühtlasi suurendasid efekti kõrvalolevad puud, samal ajal kui tammede ja kanarbiku puhul naabertaimed olulist lisamõju ei avaldanud.

### 3.4. Interaktsioonid teiste putukatega

Putukatel esineb koostöö, abistamine ja isegi altruism vältimaks seentega nakatumist. Sellega võime seletada putukate käitumises aspekte, mis aitavad neid või nende ümber olevaid liigikaaslasi seentega nakatumise eest kaitsta. Käesolevas töös jagati teiste putukatega kokkupuutega seotud käitumuslikud mehhanismid kaheks: paljunemiskäitumine ja sotsiaalne käitumine.

#### 3.4.1 Paljunemiskäitumine

Mitmed uurimused näitavad muutusi peremehe reproduktiivkäitumises, viljakusest feromoonide tootmiseni (Roy jt, 2006). Kapsakoil (*Plutella xylostella*) vähenes märkimisväärselt feromoonide vabastamine pärast putukhallikulaadse seenega *Z. radians* nakatamist. Samas toimus see ainult 24 tundi enne surma, aga mitte varem, mis võib tähendada, et antud käitumine on rohkem seotud putuka organismi kurnatusega kui otsese kaitsekohastumusega (Reddy jt, 1998). Ei tohi unustada, et putukhallikulaadsete areng putukas toimub kuni suures osas putukale märkamatuks, seega saab putukas reageerida alles siis, kui seene tuvastamine võimalik on. Reddy jt (1998) katsetulemused näitasid ka langust isaste reageeringus feromoonidele võrreldes nakatumata isenditega.

Paljunemiskäitumisest loobumine või selle intensiivsuse tugev langus vähendab nakkuse horisontaalset ehk läbi keskkonna edasikandumist, putukate vahelist kokkupuudet ja sellega samuti kaasnevat patogeeni edasikannet (Roy jt, 2006; Dimbi, Maniana ja Ekese, 2013). Üksiti väheneb madala paljunemisaktiivsusega potentsiaalne vertikaalne edasikandumine.

#### 3.4.1 Sotsiaalne käitumine

Kutiikula on putuka üks olulisemaid kaitsebarjääre võitluses keha pinnal olevate helekottseenelaadsete ja putukhallikulaadsete eoste vastu. Seetõttu on äärmiselt oluline kutiikula puhastamine (Roy jt, 2006). Sotsiaalse käitumise parimaks kaitsekohastumuseks ongi hooldamine ehk keha pinna puhastamine. Selle saab jagada kaheks: enese hooldamine (*autogrooming*) ja kahe või enama putuka üksteise hooldamine (*allogrooming*) (Böröczky, 2013; Valentine, 2007).

Enese hooldamise näitena eemaldavad kärsaklase *Diaprepes abbreviatus* röövikud keha pinnalt enamuseid puhtas mullas liikudes. Seda näitas ka nakatatud mullale puhta mulla kihi lisamisel madalam tõukude suremus (Quintela ja McCoy, 1998). Seejuures ei saa me olla

kindlad, kas tegemist on kaasneva nähtusega või suunatud tegevusega. Toakärbes (*Musca domestica*) pühib keskmiste või esijalgadega üle oma pea ja puhastab nii pea osi (Barber ja Starnes, 1949). Böröczky (2013) leidis oma uuringus, et hooldamine vähendas keskkonnast tulevate võõrkehade hulka kutiikulal. Kolme kärbseliiki hõlmavas uuringus märgiti, et seeneostega piserdatud *Ceratitis cosyra* isendid puhastasid ennast rohkem, kui kontrollrühm (Dimbi, Ekesi ja Maniania, 2013).

Viiel hammaslamesklase, *Uleiota debilis*, esindajal täheldati üksteise puhastamist. Sealjuures olid putukad üsna statsionaarsed ega aidanud protsessile kaasa. Ühe teise hammaslamesklase *Nausibius major* puhul oli hooldamine palju rohkemaid piirkondi hõlmav ning putukas aitas kaasa asendi muutmise või liikumatusega efektiivsemale puhastamisele. Samal liigil on kirjeldatud antenni puhastamist, esijala puhastamist, enese hõõrumist vastu pinda ning seeläbi välistest võõrkehast vabanemist. Sellise käitumisega ei olnud seotud kopuleerumise katseid, vastuhakku ega vältimiskatseid. Puhastatud piirkonnad hõlmasid muuhulgas putuka keha kõige õrnemaid kehaosi nagu tundlad, pea erinevad osad, jalgade erinevad osad. Sealjuures ei täheldatud puhastamisel kindlat mustrit (Valentine, 2007). Üksteise hooldamine aitab hoida keha pinna puhtana näiteks puu koore all elavatel putukatel, kellel endal pole võimalik oma keha puhastada. Hooldamiskäitumist on täheldatud ligikaudu 90-l liigil mardikaliste seltsis (Valentine, 2007). Hooldamine on vastumeede vaid läbi kutiikula nakatavatele entomopatoogeensetele seentele. Putukhallikulaadsete ja helekottseenelaadsete puhul takistab hooldamine nii eose kinnitumist, kui läbi kutiikula tungimist. Kuna putukhallikulaadsete eosed arenevad kiiremini ning neil on lisarakukiht ja lima, mis aitab kinnituda, võiks arvata, et nende eemaldamine on putukale raskem ja kiiremat reaktsiooni nõudev kui väikeste helekottseenelaadsete eoste puhul, kelle elutsükkel on võrreldes teiste seentega aeglasem ning kulub aega, kuni putuka eksoskeleti pinnal olev eos suudab kutiikulast läbi tungida. Keratiiniseenelaadsete puhul pole mõju teada.

### **3.5 Munemiskäitumine**

Putukate munad oma staatilise oleku ja tugeva kestaga kujutavad endast seeneeostele rasket sihtmärki. Sellegipoolest leidub kirjandust ka nakatunud muna staadiumist (Rodrigues jt, 2014). Lihtsam viis, kuidas putukad saavad vältida oma munade nakatumist entomopatoogeensete seentega, on need muneda keskkonda, kus nad seentega kokku ei puutu. Kirjutiiblaste sugukonda kuuluv *Rhagoletis cerasi* muneb oma munad kirsside sisse. See annab röövikute esimestele staadiumitele väga hea barjääri seente vastu (Daniel ja Wyss, 2009).

Teine võimalus munevatele emastele on olemasolevate märkide abil hinnata munemiskoha kvaliteedi (Meyling ja Pell, 2006; Ormond jt, 2011). Õielutiklaste sugukonna esindajad, *Anthocoris nemorum*, munesid tunduvalt rohkem mune lehtedele, mis olid *Beauveria bassiana* seeneoste vabad, kui neile, mis olid eostega töödeldud. Samas ei suutunud sama liigi esindajad tuvastada patogeene mullal. See näitab substraadi olulisust putukate poolses patogeeni äratundmises (Meyling ja Pell, 2006). Teisalt ei saa substraadispetsiifilist patogeeni äratundmist laiendada kõiki putukaid hõlmavaks omaduseks. Seitsetäpp lepatriinud (*Coccinella septempunctata*) tuvastasid ja vältisid *B. bassiana* eoseid nii lehtedel kui ka maapinnal (Ormond jt, 2011). Lisaks mängib ka lepatriinude puhul rolli seen-taim koosmõju. Kui emased said valida vaid nakatunud lehti, kõndisid nad neil äärmiselt ettevaatlikult (Cory ja Hoover, 2006).

Muutusi munemiskäitumises on täheldatud ka kärbestel hulgas. Rohkem muneti kontrollgrupi tervete, kui *M. anisopliae* eostega nakatunud emaste poolt. Väiksem munade hulk võib olla tingitud seene metaboliitide toksilisest mõjust (Castillo jt, 2000). Selle põhjal võime öelda, et see puudutab rohkelt toksiine tootvaid läbi eksoskeleti nakatavaid seeni, seltsi helekottseenelaadsed, esindajad. Vähem mõjutab see mürke tootvaid ning alles oma arengu lõpus eritavaid putukhallikulaadseid. Seda kinnitab ka olemasolev teaduskirjandus (Reddy jt, 1998).

Munevad emased ei saa vältida õhu kaudu edasi kanduvaid eoseid, küll aga hinnata munemiskohas patogeeni puudumist, sealjuures saavad erinevad putukaliigid erinevatel substraatidel sellega erinevalt hakkama (Meyling ja Pell, 2006; Ormond jt, 2011).

## 4. Putukate eluetappide iseärasused

Tabel 2. Täismoonega putukate eluetappide kohastumused

Putuka elu- staadium	Kohastumus	Seen	Putukaseltsid	Allikas
<b>Valmik</b>	Nakatanud pinna vältimine	HK	Nokalised (Hemiptera)	Meyling ja Pell, 2006
	Päevitamine	HK; PH	Sihktiivalised (Orthoptera); kahetiivalised (Diptera); liblikalised (Insecta)	Carruthers jt, 1992; Anderson jt, 2013a,b; Watson, Mullens ja Petersen, 1993; Kalsbeek jt, 2001; Anderson jt, 2013a,b; Furlong ja Pell, 1997; Fargues, 1996
	Toidutaime valik	HK, KS	Nokalised, liblikalised	Duetting jt, 2003; Raymond jt, 2005;
	Paljunemiskäitumine	PH	Liblikalised	Reddy jt, 1998
	Hooldamine	HK, PH	Kahetiivalised, prussakalised (Blattodea), mardikalised	Böröczky, 2013; Dimbi, Ekesi ja Maniania, 2013; Valentine, 2007
	Munemiskäitumine	HK	Nokalised, mardikalised, kahetiivalised	Meyling ja Pell, 2006; Ormond jt, 2011; Dimbi, Ekesi ja Maniania, 2013

<b>Vastne</b>	Nakatunud mulla vältimine	HK	Mardikalised, sihktiivalised	Villani jt, 1994, 1999)
	Hooldamine	HK	Mardikalised	Quintela, McCoy ja Clayton, 1998

HK - helekottseenelaadsed, PH - putukhallikulaadsed, KS - keratiiniseenelaadsed

Olles teinud ülevaate nii putukate kaitsekohastumustest kui ka seente nakatamisstrateegiatest, saame väita, et kirjanduse järgi on putukate eluetappidest rohkem kohastumusi valmikutel. Valmikud on reeglina ka kõige kergemad sihtmärgid seenecoste tänu oma liikuvusele. Seeneseltsidest on enim kohastumusi suunatud generalistidest helekottseenelaadsete vastu, kuid nii mitmedki kohastumused on universaalsed ja toimivad erinevate seeneseltside puhul. Üksiti võib hetke teadmine olla puudulik looduslikes tingimustes läbiviidud katsete ning putukate, eelkõige majanduslikult vähetähtsate, kohta käivate uuringute vähesusest.

Keratiiniseenelaadsed, kellele viidatakse koos putukhallikulaadsete ja helekottseenelaadsetega kui enam uuritud rühmale, kohta leidub siiski vähe kirjandust putukate kaitsekohastumustest. Lisaks on nad ka suhteliselt kitsa peremeeste spektriga võrreldes kahe teise töös käsitletud seltsiga. Tänu nakatumise toimumisele putuka sees, on seen kaitstud mitmete kaitsekohastumuste eest. Kõige tõenäolisemalt töötab nende vastu toitumiskäitumine. Täpsemalt erinevad fütokemikaalid, mis eose nakatamisvõimet alandavad, ka mängib olulist rolli eoste vältimine pindadel, kust need võivad koos toiduga seedesüsteemi sattuda. Keratiiniseenelaadsetega ja helekottseenelaadsetega nakatumist on tänu nende invasiivsemale levimisviisile putukal märksa lihtsam ära tunda. Putukhallikulaadsetega nakatumist on putukal raskem tuvastada tänu seene teistsugusele, vähem invasiivsele levimisviisile. Generalistidest helekottseenelaadsete vastaste kohastumuste rohkust võib põhjendada just invasiivse levimisviisiga, millega kaasneb suurema hulga sekundaarsete metaboliitide tootmine. Lisaks toodavad nad suurtes kogustes eoseid, mis generalistidele omaselt ohustavad paljusid putukaid erinevalt spetsialistidest putukhallikulaadsetest või veelgi suurema spetsialiseeritusega keratiiniseenelaadsetest. Kõik need omadused aitavad kaasa putuka suuremale võimalusele helekottseenelaadsete ära tundmiseks ja vältimiseks. Samal ajal putukhallikulaadsed oma palju kiirema elutsükli juures omavad märkimisväärset peiteaega. Kitsa peremeeste ringi juures panustavad putukhallikulaadsed oluliselt rohkem õige peremeheni jõudmiseni. Selline

strateegia võib vähendada ülejäänud putukate kokkupuudet seenega ning seega ka putukate oskusi nakatumist vältida. Samas näeme, et just muutused paljunemiskäitumises on suunatud putukhallikulaadsete vastu. See on ka ainuke kaitsekohastumus, mis teadaolevalt esineb vaid putukhallikulaadsete vastu. Käesoleva arutelu kinnitamiseks oleks vaja veel täiendavaid uuringuid. Lisaks aitaksid teadmiste edendamisele kaasa uuringud erinevates kooslustes ning suuremat hulka liike hõlmavad uuringud.

### 3. Kokkuvõte

Putukad on väga mitmekesine organismirühm (Gaston, 1991), kes mängib olulist rolli ökosüsteemi aineringetes (Seastedt ja Crossley, 1984). Entomopatogeensed seened moodustavad olulise osa putukate patogeenidest, mistõttu neid kasutatakse ka sünteetiliste insektitsiidide asemel bioloogiliste taimekaitsevahenditena (Quintela, McCoy, 1998; Meyling ja Pell, 2006). Tänu sellele on valdav enamus teemakohaseid artikleid just põllumajandusliku suunitlusega ning käsitlus putukate efektiivse hävitamise keskne (Roy jt, 2006; Baverstock jt, 2010; Mora jt, 2017). Selleks, et mõista erinevate putukate kaitsemehhanisme, tuleb kõigepealt mõista seenetaksonite nakatamisstrateegiaid, mis erinevad näiteks eoste tüübi, hulga ja toksiinide tootmise poolest (Hesketh jt, 2010). Ühtlasi erineb nende vastupidavus ja nõudlus keskkonnatingimustele (Hajek jt, 2012) nagu temperatuur, õhuniiskus ja UV-kiirgus (Roy jt, 2006). Lisaks oleneb nakatuvus sellest, kas putukas saab pihta värske edasi kanduva eosega või toimub nakatumine mingile substraadile jõudnud eose kaudu (Fernandez jt, 2001). Nakatunud putukas suudab töös käsitletud seenpatogeenide puhul nende elutegevust vaid aeglustada ning mitte täielikult seennakkusest vabaneda (Hesketh jt, 2010). Seetõttu on hoolimata mõnede eoste madalamast virulentsusest äärmiselt oluline kõikide seeneeostega kokkupuudet vältida (Hesketh jt, 2010).

Tähtsaim kaitsekohastumus entomopatogeensete seente vastu ongi üldine nakatumise vältimine. Lisaks vältimisele on käitumuslikuks kohastumuseks ka niinimetatud päevitamine. Selle käigus tõstab putukas keskkonna mõjul oma kehatemperatuuri (Blanford ja Thomas, 2001) üle seenele optimaalse. Päevitamisega kaasneb ka UV-kiirgus, mis langetab seeneste virulentsust (Steinkraus, 2006; Meyling ja Pell, 2006). Antud kohastumus aitab nii helekottseenelaadsete kui ka putukhallikulaadsete vastu, kuid teadaolevalt mitte keratiiniseenelaadsete vastu. Sealjuures näib tegemist olevat äärmiselt tulusa meetmega, kuna putuka eluaeg pikenes märgatavalt võrreldes kontrollgrupiga (Roy jt, 2006).

Veel kaitsevad putukad ennast läbi toitumiskäitumise. Herbivoorsete putukate puhul mängib olulist rolli ka taime ja seene koosmõju. Taime omadused võivad nakatumisohtu putukale kas tõsta või langetada. Erinevusi põhjustavad nii erinevad liigid kui ka sama liigi erinevate sortide omadused, näiteks lehtede pealne vahakiht hernestel (Ferrari jt, 2004). Taimede sekundaarsed metaboliidid võivad vastavalt nende tüübile ja kogusele putukale nii kasulikud kui ka kahjulikud olla (Cory ja Hoover, 2006). Käesolev kaitsekohastumus on eriti oluline keratiiniseenelaadsete puhul, ent kirjeldatud ka helekottseenelaadsete vastu (Duetting jt, 2003; Raymond jt, 2005).

Lisaks toimuvad pärast nakatumist muutused sigimiskäitumises, mis vähendavad nakkuse edasikandumist ja potentsiaalset järglaste hulka (Roy jt, 2006). Sotsiaalse käitumise alla minevad mehhanismid vähendavad potentsiaalsete nakatajate hulka kehapinnal. Kutiikula kui putuka ühe tähtsaima biobarjääri puhastamine võib olla nii enese puhastamine kui kahe või enama putuka üksteise hooldamine (Quintela, McCoy ja Clayton, 1998). Eelmainitud kohastumus töötab vaid läbi kutiikula nakatavate seente vastu ning ilmselt omab suurimat mõju helekottseenelaadsete puhul nende aeglase elutsükli ja sellest tulenevalt aeglase kutiikulast läbi tungimise tõttu.

Üks viis nakkuse leviku takistamiseks on ka muutused munemiskäitumises. Oluline on asukoht, kus munemine toimub ning nakatunud isendid munevad vähem mune (Meyling ja Pell, 2006; Daniel ja Wyss, 2009; Ormond jt, 2011).

Teades entomopatoogensete seente eripärasid putuka nakatamisel ja oma eoste levitamisel, oskame paremini mõista ka putukate kaitsemehhanisme nende vastu. Vastuvõtlikkus erinevates eluetappides on erinev nii putuka enda omaduste pärast kui ka seeneliigi virulentsuse poolest. Hetketeadmiste kohaselt on putukate jaoks kõige ohtlikum eluetapp valmikuiga, mil leidub kõige enam nakatumist (Meyling ja Pell, 2006) ning kaitsekohastumusi selle vastu (tabel 2). Sealjuures on kõige enam kohastumusi leitud generalistidest helekottseenelaadsete vastu. Samas on mitmed kohastumused universaalsed ning kaitsevad erinevate seeneseltsidega nakatumise eest. Olenemata uurimissuuna laiast kasutusspektrist, vajavad meie teadmised putukate käitumuslikest kohastumustest seenpatogeenide vastu katselist ja vaatluslikku täiendamist. Helekottseenelaadsed, putukhallikulaadsed ja keratiiniseenelaadsed on putukaid nakatavatest seentest enim uuritud (Baverstock jt, 2010; Boomsma jt, 2014; Mora jt, 2017). Keratiiniseenelaadsete puhul on puudujäägid teadmistes putukate käitumuslike vastuste osas siiski suuremad võrreldes kahe teise seeneseltsiga. Üleüldiselt on teadmised puudulikud loodusliku käitumise osas, arusaamas erinevates kooslustes leiduvate kohastumuste sarnasusest või erinevusest ja teadmatus mitmete putukarühmade kaitsekohastumuste osas.

## 6. Summary

### **Solitary insects behavioural defence mechanisms against entomopathogenic fungi**

Insects are a diverse group of organisms (Gaston, 1991) that have an important role in the nutrient cycle of ecosystems (Seastedt & Crossley, 1984). Entomopathogenic fungi form an important part of insect pathogens. Therefore fungi are used as plant protection substances (Quintela, McCoy, 1998; Meyling & Pell, 2006). Mainly for this reason most of the articles on this topic are agricultural and from the perspective of killing insects (Roy *et al.* 2006; Baverstock *et al.* 2010; Mora *et al.* 2017).

In order to understand the different defence mechanisms of insects, the infection strategies of entomopathogenic fungi must be understood. They differ in the conidial type and amount, toxin production and other factors (Hesketh, 2010). There are also differences in the tolerance and the need for various environmental conditions (Hajek *et al.* 2012) like temperature, humidity and UV-radiation (Roy *et al.* 2006). Different virulence levels occur when the insect is infected by fresh conidia or by conidia that has reached some kind of surface, such as a plant (Fernandez *et al.* 2001). Once infected, the insects are only capable of prolonging the life cycle of fungi (Hesketh *et al.* 2010). Therefore it is important to avoid all virulent fungi and not only the most infectious strains.

The most important way to avoid infection is prevention in general. One of the behavioural adaptations against fungi is so-called sunbathing. The insect raises its body temperature (Blanford & Thomas 2001) over the fungal optimum. Another advantage of sunbathing is UV-radiation, which decreases the virulence of fungi (Steinkraus, 2006; Meyling & Pell, 2006). This adaptation helps against the Hypocreales and Entomophthorales orders, but according to our knowledge, not against the Onygenales order. Moreover, it seems to be an effective adaptation, because the lifespan of insects prolonged remarkable compared to testgroup (Roy *et al.* 2006).

Insects also defend themselves with their eating behaviours. In the case of herbivorous insects, the interplay between the plant and the fungi also has an important role. The characteristics of the plant can increase or decrease the risk of infection. These variations are caused by the differences between species, as well as the differences between features of specimen from the same species. for example in the epicuticular wax of pea plant leaves (Ferrari *et al.* 2004). The secondary metabolites of plants can be either harmful or beneficial to insects, depending on their type and amount (Cory & Hoover, 2006). This defence adaptation is especially important

against the Onygenales order, but has also been described with regard to the Hypocrealean order (Duetting *et al.* 2003; Raymond *et al.* 2005).

Besides that, changes in reproductive behaviour occur. After the infection, insects passiveness decreases the spread of the disease and amount of offspring (Roy *et al.* 2006). Adaptions related to social behaviour reduce the amount of infectious particles on the body surface. Cleaning the cuticle, the most important barrier for insects, can be allogrooming or autogrooming (Quintela, McCoy & Clayton, 1998). This has an effect only on those fungi that infect through the cuticle, among which the effect is probably biggest on the Hypocrealean order. This is due to their slower life cycle and the resulting slower speed at which they penetrate the cuticle.

Another way to restrict the spread of the disease is through egg laying connected behaviour. Important are the place where the eggs are being laid and infected insects lay less eggs (Meyling & Pell, 2006; Daniel & Wyss, 2009; Ormond *et al.* 2011).

Knowing how the fungi infect insects and spread their conidia helps us understand the different defence mechanisms of insects. Infectability varies during different life stages due to the insects' characteristics as well as the virulence of fungi species. According to current knowledge, the most dangerous stage is the imago, when most infection occurs (Meyling & Pell, 2006), but also when most defence mechanisms can be found. Most defence adaptions are directed against generalist Hypocrealean, which are easier to identify for insects. At the same time several adaptions are universal for different fungi. To sum it up, although this branch of study has many applicabilities, there is still not enough knowledge about insects' defence mechanisms. Hypocreales, Entomophthorales and Onygenales are the most studied orders of entomopathogenic fungi (Baverstock *et al.* 2010; Boomsma *et al.* 2014; Mora *et al.* 2017). From which Onygenales are less studied compared to other two groups in perspective of insects' defence mechanism. We need more studies that have been conducted in different types of environments and incorporate more insects, including economically less important insects.

## **Tänuavaldused**

Soovin südamest tänada oma juhendajat Robin Gielenit nõuannete, toetava suhtumise ja asjakohase kriitika eest, mis aitas töö valmimisele tublisti kaasa. Samuti soovin tänada Põllumajandusuuringute keskuse Viljandi katsekeskust samuti mõistva ja toetava suhtumise eest töö kirjutamisperioodil.

## Kasutatud kirjandus:

1. Anderson, R.D., Blanford, S., Jenkins, N.E. ja Thomas, M.B. (2013a) Discriminating fever behavior in house flies. *PLoS one*. 8, e62269.
2. Anderson, R.D., Blanford, S. ja Thomas, M.B. (2013b) House flies delay fungal infection by fevering: at a cost. *Ecological Entomology*. 38, 1–10.
3. Araújo, J.P.M. ja Hughes, D.P. (2016) Diversity of Entomopathogenic Fungi. *Advances in Genetics*, 94, 1–39.
4. Arthurs, S. ja Thomas, M.B. (2001) Effects of Temperature and Relative Humidity on Sporulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in Mycosed Cadavers of *Schistocerca gregaria*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 78, 59–65.
5. Barber, G.W. ja Starnes, E.B. (1949) The activities of house flies. *Journal of the New York Entomological Society*. 57, 203–214.
6. Barbee, M.L. ja Taylor, J.W. (2010) Dating the molecular clock in fungi: How close are we? *Fungal Biology Reviews*. 24, 1-16.
7. Barelli, L., Moonjely, S., Behie, S.W. ja Bidochka M.J. (2016) Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. *Plant Molecular Biology*. 90, 657–664.
8. Baverstock, J., Roy, H.E. ja Pell, J.K. (2009) Entomopathogenic fungi and insect behaviour: from unsuspecting hosts to targeted vectors. *BioControl*. 55, 89–102.
9. Boomsma, J.J., Jensen, A.B., Meyling, N.V. ja Eilenberg, J. (2014) Evolutionary Interaction Networks of Insect Pathogenic Fungi. *Annual Review of Entomology*. 59, 467–485.
10. Böröczky, K., Wada-Katsumata, A., Batchelor, D., Zhukovskaya, M. ja Schal, C. (2013) Insects groom their antennae to enhance olfactory acuity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*. 110, 3615–3620.
11. Brace, A. J., Lajeunesse, M. J., Ardia, D. R., Hawley, D. M., Adelman, J. S., Buchanan, K. L. ja Martin, L. B. (2017) Costs of immune responses are related to host body size and lifespan. *Journal of Experimental Zoology*. 327, 254–261.
12. Butt, T.M., Beckett, A. ja Wilding, N. (1981) Protoplasts in the in vivo life cycle of *Erynia neoaphidis*. *The Journal of General Microbiology*. 127, 417–421.
13. Carruthers, R. I., Larkin, T. S., Firstencel, H. ja Feng, Z. (1992) Influence of Thermal Ecology on the Mycosis of a Rangeland Grasshopper. *Ecology*, 73, 190–204.
14. Cory, J. S. ja Hoover, K. (2006) Plant-mediated effects in insect–pathogen interactions. *Trends in Ecology & Evolution*. 21, 278–286.
15. Daniel, C. ja Wyss, E. (2009) Susceptibility of different life stages of the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*, to entomopathogenic fungi. *Journal of Applied Entomology*. 133, 473–483.
16. Dicke, M. ja Grostal, P. (2001) Chemical detection of natural enemies by arthropods: an ecological perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 32, 1–23.
17. Dimbi, S., Maniania, N.K. ja Ekesi, S. (2013) Horizontal Transmission of *Metarhizium anisopliae* in Fruit Flies and Effect of Fungal Infection on Egg Laying and Fertility. *Insects*, 4, 206-216.

18. Duetting, P.S., Ding, H., Neufeld, J. ja Eigenbrode, S.D. (2003) Plant waxy bloom on peas affects infection of pea aphids by *Pandora neophidus*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 84, 149–158.
19. Dukik, K., Muñoz, J. F., Jiang, Y., Feng, P., Sigler, L., Stielow, J. B., Freeke, J., Jamalian, A., van den Ende, B.G., McEwen, J.G., Clay, O.K., Schwartz, I.S., Govender, N.P., Maphanga, T.G., Cuomo, C.A., Moreno, L., Kenyon, C., Borman, A.M. ja de Hoog, S. (2017) Novel taxa of thermally dimorphic systemic pathogens in the Ajellomycetaceae (Onygenales). *Mycoses*. 60, 296–309.
20. Fargues, J., Goettel, M.S., Smits, N., Ouedraogo, A., Vidal, C., Lacey, L.A., Lomer, C.J. ja Rougier, M. (1996) Variability in susceptibility to simulated sunlight of conidia among isolates of entomopathogenic Hyphomycetes. *Mycopathologia*. 135, 171–181.
21. Fernandez, S., Groden, E., Vandenburg, J.D. ja Furlong, M.J. (2001) The effect of mode of exposure to *Beauveria bassiana* on conidia acquisition and host mortality of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 77, 217–226.
22. Ferrari, J., Godfray, H.C.J. (2003) Resistance to a fungal pathogen and host plant specialization in the pea aphid. *Ecology Letters*. 6, 111–118.
23. Ferrari, J., Darby, A.C., Daniell, T.J., Godfray, H.C.J., Douglas, A.E. (2004) Linking the bacterial community in pea aphids with host-plant use and natural enemy resistance. *Ecological Entomology*. 29, 60–65.
24. Funk, C. J., Ramoska, W. A. ja Bechtel, D. B. (1993). Histopathology of Entomophaga grylli Pathotype 2 Infections in *Melanoplus differentialis*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 61, 196–202.
25. Furlong M.J. ja Pell J.K. (1997). The influence of environmental factors on the persistence of *Zoophthora radicans* conidia. *Journal of Invertebrate Pathology*. 69, 223–233.
26. Gao, Q., Jin, K., Ying, S. H., Zhang, Y., Xiao, G., Shang, Y., Duan, Z., Hu, X., Xie, X.Q., Zhou, G., Peng, G., Lou, Z., Huang, W., Wang, B., Fang, W., Wang, S., Zhong, Y., Ma, L.J., St Leger, R.J., Zhao, G.P., Pei, Y., Feng, M.G., Xia, Y. ja Wang, C. (2011) Genome Sequencing and Comparative Transcriptomics of the Model Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. acridum*. *PLoS Genetics*. 7, e1001264.
27. Hesketh, H., Roy, H.E., Eilenberg, J., Pell, J.K. ja Hails, R.S. (2010) Challenges in modelling complexity of fungal entomopathogens in semi-natural populations of insects. *BioControl*. 55, 55–73.
28. Heckman, D.S., Geiser, D.M., Eidell, B.R., Stauffer, R.L., Kardos, N.L., Hedges, S.B. (2001) Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science*. 293, 1129–1133.
29. Lord, J.C. (2001) Response of the wasp *Cephalonomia tarsalis* (Hymenoptera: Bethyilidae) to *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as free conidia or infection in its host, the sawtoothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae). *Biological Control*. 21, 300–304.
30. Montalva, C., González, A., Valenzuela, E., Rojas, E. ja Humber, A.R. (2018) First Report of *Neozygites* sp. (Entomophthoromycota: Neozygiales) Affecting the Woolly Poplar Aphid, *Forest Science*. 64, 117–120.
31. Gaston, K.J. (1991) The magnitude of global insect species richness. *Conservation Biology*, 5, 283–296.

32. Glare, T.R., Milner, R.J. ja Chilvers, G.A. (1986) The effect of environmental factors on the production, discharge, and germination of primary conidia of *Zoopthora phalloides* Batko. *Journal of Invertebrate Pathology*. 48, 275-283.
33. Gul, H. T., Saeed, S. ja Khan F. Z. A. (2014) Entomopathogenic Fungi as Effective Insect Pest Management Tactic: A Review. *Applied Sciences and Business Economics*. 1, 10-18.
34. Hajek, A. E. ja St. Leger, R. J. (1994) Interactions Between Fungal Pathogens and Insect Hosts. *Annual Review of Entomology*. 39, 293-322.
35. Hajek, A.E., Papierok, B. ja Eilenberg, J. (2012) Methods for study of the Entomophthorales. Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. toimetanud Lacey, L.A., Amsterdam: Academic Press. 285-316.
36. Hajek, A.E. ja Shapiro-Ilan, D.I. (2018) General concepts in the ecology of invertebrate diseases. toimetanud Hajek, A.E. ja Shapiro-Ilan D.I., *Ecology of Invertebrate Diseases*, Hoboken, Wiley, 3-18.
37. Humber, R.A. (1997) Fungi: identification. toimetanud Lacey, L.A., Manual of Techniques in Insect Pathology, San Diego: Academic Press 153-185.
38. Humber, R. A. (2008). Evolution of entomopathogenicity in fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*. 98, 262–266.
39. Ignoffo, C. M., Garcia, C. ja Kroha, M. J. (1982) Susceptibility of larvae of *Trichoplusia ni* and *Anticarsia gemmatilis* to intrahemocoelic injections of conidia and blastospores of *Nomuraea rileyi*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 39, 198-202.
40. James, R.R. ja Xu, J. (2012) Mechanisms by which pesticides affect insect immunity. *Journal Invertebrate Pathology*. 109, 175–182.
41. Joop, G. ja Vilcinskis, A. (2016) Coevolution of parasitic fungi and insect hosts. *Zoology*. 119, 350–358.
42. Kalsbeek, V., Mullens, B. A., ja Jespersen, J.B. (2001) Field Studies of *Entomophthora* (Zygomycetes: Entomophthorales) Induced Behavioral Fever in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Denmark. *Biological Control*. 3, 264-273.
43. McCreadie, J.W., Beard, C.E. ja Adler, P.H. (2005). Context-dependent symbiosis between black flies (Diptera: Simuliidae) and trichomycete fungi (Harpellales: Legeriomycetaceae). *Oikos*. 108, 362–370.
44. Meyling, N.V. ja Pell, J.K. (2006) Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecological Entomology*. 31, 162–171.
45. Moore, J. (2002) Parasites and the Behaviour of animals. Oxford, UK: Oxford University Press
46. Mora, M.A.E., Castilho, A.M.C. ja Fraga, M.E. (2017) Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. *Arquivos Do Instituto Biológico*. 84, e0552015.
47. Nascimento, É., da Silva, S.H., Marques, E.R., Roberts, D.W. ja Braga, G.U.L. (2010) Quantification of cyclobutane pyrimidine dimers induced by UVB radiation in conidia of the fungi *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Metarhizium acridum* and *Metarhizium robertsii*. *Photochemistry and Photobiology*. 86, 1259–1266.
48. Ormond, E.L., Thomas, A.P.M., Pell, J.K., Freeman, S.N. ja Roy, H.E. (2011) Avoidance of a generalist entomopathogenic fungus by the ladybird, *Coccinella septempunctata*, *FEMS Microbiology Ecology*. 77, 229–237.

49. Paine, T.D., Raffa, K.F. ja Harrington, T.C. (1997) Interactions among scolytid bark beetles, their associated fungi, and live host conifers. *Annual Review of Entomology*. 42, 179-206.
50. Pell, J.K., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Steinkraus, D.C. (2001) Biology, ecology and pest management potential of Entomophthorales. toimetanud Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N. Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential, Wallingford: CAB International 71–153.
51. Poinar, G.O., Thomas, G.M. (1984) A fossil entomogenous fungus from Dominican amber. *Experientia*. 40, 578–579.
52. Quintela, D.E. ja McCoy, C.W. (1998) Synergistic Effect of Imidacloprid and Two Entomopathogenic Fungi on the Behavior and Survival of Larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in Soil, *Journal of Economic Entomology*. 91, 110–122.
53. Raymond, B., Hartley, S.E., Cory, J.S. ja Hails, R.S. (2005) The role of food plant and pathogen-induced behaviour in the persistence of a nucleopolyhedrovirus. *Journal of Invertebrate Pathology*. 88, 49–57.
54. Reddy, G. V., Furlong, M. J., Pell, J. K. ja Poppy, G. M. (1998) *Zoophthora radicans* Infection Inhibits the Response to and Production of Sex Pheromone in the Diamondback Moth. *Journal of Invertebrate Pathology*. 72, 167–169.
55. Rodrigues, J., Lobo, L. S., Fernandes, É. K. K. ja Luz, C. (2014) Effect of formulated *Metarhizium anisopliae* eggs and eclosing nymphs of *Triatoma infestans*. *Journal of Applied Entomology*. 139, 146–153.
56. Roy, H.E. ja Cottrell, T. (2008) Forgotten natural enemies: interactions between coccinellids and insect-parasitic fungi. *European Journal of Entomology*. 105, 391-398.
57. Seastedt, T.R. ja Crossley, D.A. (1984) The influence of arthropods on ecosystems. *Bioscience*. 34, 157-161.
58. Seastedt, T.R. ja Tate, C.M. (1981) Decomposition rates and nutrient contents of arthropod remains in forest litter. *Ecology*. 62, 13-19.
59. Sanjaya, Y., Ocampo V.R. ja Caoili B. L. (2013) Transmission effect of entomopathogenic fungi on population of *Tetanychus kanzawai* (Kishida) (Tetranychidae: Acarina). *Arthropods*. 2, 36-4.
60. Schowalter, T. D. ja Crossley, D. A. (1983) Forest canopy arthropods as sodium, potassium, magnesium and calcium pools in forests. *Forest Ecology and Management*. 7, 143–148.
61. Schreiter, G., Butt, T.M., Beckett, A., Vestergaard ja S., Moritz, G. (1994) Invasion and development of *Verticillium lecanii* in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Mycological Research*. 98, 1025–1034.
62. Shah, P. A. ja Pell, J. K. (2003) Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 61, 413–423.
63. Shimazu, M.S. ja Soper, R.S. (1986) Pathogenicity and sporulation of *Entomophaga maimaiga* Humber, Shimazu, Soper and Hajek (Entomophthorales: Entomophthoraceae) on larvae of the gypsy moth, *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae). *Applied Entomology and Zoology*. 21, 589-96.
64. Siva-Jothy, M. T., Moret, Y. ja Rolff, J. (2005) Insect Immunity: An Evolutionary Ecology Perspective. *Advances in Insect Physiology*. 32, 1–48.

65. Steinkraus, D. C. (2006) Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids. *Journal of Invertebrate Pathology*. 92, 125–131.
66. Stork, N.E. (2018) How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth?. *Annual Review of Entomology*. 63, 31-45.
67. Sung, G.H., Poinar, G.O. ja Spatafora, J.W. (2008) The oldest fossil evidence of animal parasitism by fungi supports a Cretaceous diversification of fungal-arthropod symbioses. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 49, 495-502.
68. Spatafora, J.W., Sung, G.-H., Sung, J.-M., Hywel-Jones, N. ja White, J.F.R. (2007) Phylogenetic evidence for an animal pathogen origin of ergot and the grass endophytes. *Molecular Ecology*. 16, 1701-1711.
69. Valentine, B.D. (2007) Mutual grooming in cucujoid beetles (Coleoptera: Silvanidae). *Insecta Mundi*. 54, 1-3.
70. Vega, F. E., ja Blackwell, M. (2005) Insect-fungal associations: Ecology and evolution. Oxford: Oxford University Press.
71. Vestergaard, S., Cherry, A., Keller, S. ja Goettel, M. (2003) Safety of Hyphomycete Fungi as Microbial Control Agents. toimetanud Hokkanen, H.M.T. ja Hajek, A.E. *Environmental Impacts of Microbial Insecticides*, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 32–62.
72. Villani M.G., Krueger S.R., Schroeder P.C., Consolie F., Consolie N.H., Preston-Wilsey L.,M. ja Roberts D.,W. (1994) Soil Application Effects of *Metarhizium anisopliae* on Japanese Beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) Behavior and Survival in Turfgrass Microcosms, *Environmental Entomology*. 23, 502–513.
73. Villani, M.G., Allee, L.L., Diaz, A. ja Robbins, P.S. (1999) Adaptive strategies of edaphic arthropods. *Annual Review of Entomology*. 44, 233–256.
74. Watson, D. W., Mullens, B. A. ja Petersen, J. J. (1993). Behavioral Fever Response of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to Infection by *Entomophthora muscae* (Zygomycetes: Entomophthorales). *Journal of Invertebrate Pathology*. 61, 10–16.
75. Yang, L.H. ja Gratton, C. (2014) Insects as drivers of ecosystem processes. *Current Opinion in Insect Science*. 2, 26-32.

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Triin Sellis,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose “Üksikeluliste putukate käitumuslikud kaitsekohastumused entomopatoogeensete seente vastu”, mille juhendaja on Robin Gielen, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

*Triin Sellis*

**25.05.2020**