TARTU ÜLIKOOL

ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT

ZOOLOOGIA OSAKOND

ENTOMOLOOGIA ÕPPETOOL

Kadi Tõnurist

ASUSTUSTIHEDUSE MÕJUD OGAKÄRBLASE *HERMETIA ILLUCENS* ELUKÄIGUTUNNUSTELE

Magistritöö

30 EAP

Juhendajad: kaasprofessor Toomas Esperk

doktorant Kerli Kuusk

Tartu 2025

Asustustiheduse mõjud ogakärblase *Hermetia illucens* elukäigutunnustele
Ogakärblase (*Hermetia illucens*) tööstuslik kasvatamine on muutumas üha levinumaks säästliku loomasööda ja biojäätmete käitluse lahenduseks. Siiski on vähe teada, millised asustustiheduse tingimused on optimaalsed elutsükli eri etappides, eriti nuku- ja eelnukustaadiumis. Tavaliselt esineb putukatel kõrge asustustiheduse korral vastus, kus isendid jäävad mõõtmetelt väiksemaks ja arenguaeg lüheneb. See erineb standardsest stressivastusest, kus küll isendid jäävad mõõtmetelt väiksemaks, kuid arenguaeg pikeneb. Ogakärblastel on varasemates töödes leitud asustustiheduse mõjule standardne stressivastus. Magistritöö eesmärk oli hinnata, kuidas vastse- ja nukutihedus – nii eraldi kui ka koosmõjus – mõjutavad ogakärblase arenguaega, kehamassi ja elumust. Eraldi tähelepanu alla võeti seni vähe uuritud eelnuku- ja nukustaadium, mil ogakärblase vastsed sooritavad nukkumisrändeid, mis viitab keskkonnatingimuste tajumisele ka neis tavaliselt mitteaktiivsetes staadiumites. Magistritöö tulemused näitasid, et madalal vastsetihedusel ogakärblaste areng pikenes, kuid suurenes ka eelnuku- ja valmikumass. Kõrge vastsetihedus lühendas arengut, kuid vähendas isendite massi, viidates keskkonna tajumist ebasoodsana. Need tulemused erinevad varasemate uuringute tulemustest. Nukutihedus üksi olulist mõju ei avaldanud, kuid koosmõjus vastsetihedusega ilmnes märkimisväärne ning sugude lõikes erinev mõju. Tulemused viitavad, et madal asustustihedus nii vastse- kui nukustaadiumis võib suurendada biomassitootlikkust ja valmikute eluiga ning seeläbi potentsiaalselt ka viljakust. Uuring pakub uusi teadmisi tihedusest sõltuvate stressivastuste kohta ning praktilisi juhiseid ogakärblase kasvatuse optimeerimiseks.

Märksõnad: *Hermetia illucens,* elukäigutunnused, vastsetihedus, nukutihedus, asustustihedusest tingitud stress

Effects of population density on the life-history traits of the black soldier fly (*Hermetia illucens)*
The industrial rearing of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) is becoming an increasingly widespread solution for producing more sustainable animal feed and managing biowaste. However, optimal population densities at different stages of the insect's life cycle – particularly during the prepupal and pupal stages – remain poorly understood. In insects, density-dependent stress typically leads to smaller body size and shorter development time. This contrasts with typical stress responses, which usually slow development while simultaneously reducing body size. Previous research on black soldier flies has documented this characteristic stress response. This thesis investigates the effects of larval and pupal density – both independently and in combination – on development time, body mass, and survival in *H. illucens*. Special emphasis was placed on the relatively understudied prepupal and pupal stages, during which larvae migrate in search of a pupation site, thus suggesting environmental sensitivity even in this generally inactive phase. The results showed that low larval density prolonged development but produced heavier prepupae and adults. High larval density shortened development time but reduced body mass, indicating that larvae may perceive their environment as unfavorable under crowded conditions. These results partly contradict previous research. Although pupal density alone had no significant effect, its interaction with larval density produced notable impacts, with the effects varying between sexes. From an industrial rearing perspective, the findings suggest that maintaining low population density both larval and pupal stages may optimize biomass production and enhance longevity, potentially leading to higher fecundity. This study provides new insights into density-dependent stress responses in *H. illucens* and offers practical guidelines for improving its rearing conditions.

Keywords: *Hermetia illucens*, life-history traits, larval density, pupal density, density-dependent stress

SISUKORD

1. SISSEJUHATUS 6

2. METOODIKA 10

2.1. Uurimisobjekti kirjeldus 10

2.2. Asustustiheduse katse – vastsestaadium 11

2.3. Asustustiheduse katse – eelnuku- ja nukustaadium 12

2.4. Asustustiheduse katse – valmikustaadium 13

2.5. Andmeanalüüs 14

2.6. Töö autori roll 15

3. TULEMUSED 16

3.1. Arengustaadiumite kestused 16

3.2. Kehamass 23

3.3. Suremus 27

4. ARUTELU 28

5. KOKKUVÕTE 38

6. SUMMARY 40

7. TÄNUAVALDUSED 43

8. KASUTATUD KIRJANDUS 44

1. SISSEJUHATUS

Arenguaja, kehasuuruse, ellujäämuse ja viljakuse näol on tegemist elukäigutunnustega, mis otseselt mõjutavad organismide kohasust ja populatsioonidünaamikat (Roff, 2002; Segoli & Wajnberg, 2025). Need elukäigutunnused on tihti sõltuvad keskkonnateguritest nagu temperatuur, niiskus, toidu kvaliteet ja kogus, röövlus, parasitism ning ka konkurents (Nylin & Gotthard 1998; Stearns, 1998; Abbott & Dwyer, 2007; Segoli & Wajnberg, 2025). Keskkonnamõjud avalduvad kõigile organismidele, kuid eriti tugevalt on neid täheldatud liikidel, kelle areng on kiire ja järglaste arv suur (Bodlah *et al.*, 2023). Keskkonnategurite, nagu madala kvaliteediga või väikesema toiduressursi korral esineb tihti niinimetatud standardne stressivastus, kus isendite arenguaeg on pikem, kuid sellest hoolimata jäävad nad mõõtmetelt väiksemaks, kui isendid, kes kasvavad kõrgema kvaliteedi ja suurema hulga toiduressursiga keskkonnas (Teder *et al.*, 2014).

Putukate elukäigutunnused – sealhulgas arengukiirus, kehasuurus ja elumus – moodustavad omavahel seotud kompleksi, mis mõjutavad tugevalt isendi kohasust (Nylin & Gotthard, 1998; Stearns, 1998; Clissold & Simpson, 2015). Üheks putukate jaoks oluliseks, ent suhteliselt väheuuritud keskkonnateguriks on asustustiheduse mõju. Asustustihedusel on tugev mõju putukate elukäigutunnustele ning selle mõju on põhjalikult uuritud vastse arengu kontekstis (Than *et al.*, 2020), kuid siiski esineb ka neis uuringutes lünki (Muurmann *et al.*, 2025). On täheldatud, et erinevatel liikidel võib asustustihedusest tulenev mõju elukäigutunnustele väljenduda erinevalt (Ireland & Turner, 2006; Vellau & Tammaru, 2012; Saunders *et al.*, 2013; Than *et al.*, 2020). Toakilgi (*Acheta domestica*) ja hariliku toakärbse (*Musca domestica*) puhul esineb standardne stressivastus ehk kõrge asustustiheduse puhul pikeneb arenguaeg ja väheneb mass (Mahavidanage *et al.*, 2023), samas kui näiteks mitmed lihakärblased (*Calliphoridae*) ja vaksiklased (*Geometridae*) jäävad jäävad kõrgel asustustihedusel kasvades küll samuti väiksemaks, kuid ka nende arenguaeg lüheneb võrreldes madalal asustustihedusel kasvanud liigikaslastega (Vellau & Tammaru, 2012; Saunders *et al.*, 2013; Than *et al.*, 2020). Selline vastus viitab võimalusele, et suur asustustihedus ei pruugi olla pelgalt suboptimaalsest keskkonnast tulenev stress, vaid võib toimida signaalina väga ebasoodsa või isegi ohtliku keskkonna kohta, millest püütakse võimalikult kiiresti lahkuda väiksema kehasuuruse hinnaga (Than *et al.*, 2020). Siiski jääb selle mehhanismi täpne adaptiivne tähendus esialgu hüpoteetiliseks ja vajab täiendavat uurimist (Vellau & Tammaru, 2012).

Kuna asustustihedus võib mõjutada nii vastsete arenguaega, suurust kui ka elumust (Agnew *et al.*, 2002), siis on asustustiheduse mõju uurimine oluline mitte ainult liigi bioloogia tundmise seisukohalt, vaid ka rakenduslikus kontekstis, näiteks putukate suuremastaapsel kasvatamisel toiduks, loomasöödaks või biotõrje eesmärgil (Parra, 2010; Morales-Ramos *et al.*, 2024). Eriti vähe on uuritud asustustiheduse mõjusid (eel-)nukuperioodil, kuna enamikel liikidel ei ole tegemist aktiivse arengustaadiumiga (Than *et al.*, 2020). Looduses mõjutavad austustihedust erinevad tegurid, näiteks ressursi kättesaadavus, kliima, kisklus ja haiguste levik (Abbott & Dwyer, 2007), kuid kasvatustingimustes saab asustustihedust kunstlikult reguleerida, mistõttu on asustustiheduse mõjude tundmisel potentsiaalselt suur olulisus ka tööstuslikule putukakasvatusele (Andress *et al.*, 2015; Dowell *et al.*, 2021).

Ogakärblane *Hermetia illucens* on selle sajandi jooksul pälvinud märkimisväärset teaduslikku huvi, eeskätt vastsete võime tõttu utiliseerida toidutööstuse kõrvalsaadusi (Holmes *et al.*, 2013). Ogakärblase vastseid saab edukalt kasvatada mitmesugustel biojäätmetel (Hoffmann, 2021), kuna nad on vastupidavad erinevatele patogeenidele (Joosten *et al.*, 2020) ning on võimelised talletama suures koguses rasvu ja valke (Hoffmann, 2021). Seetõttu on selle liigi vastsete näol tegemist potentsiaalselt säästlikuma alternatiiviga traditsioonilistele loomasöötadele (Hoffmann, 2021). Selle liigi isendeid on edukalt kasutatud biojäätmete käitluses ning vastseid on kasvatatud nii loomasöödaks kui ka potentsiaalse toiduallikana inimestele (Wang & Shelomi, 2017; Kaya *et al.*, 2021). Seejuures on oluline tunda ogakärblase *H. illucens* arengut mõjutavaid tegureid, et optimeerida nende tööstuslikku kasvatust. Varasemad uuringud on peamiselt keskendunud toidu kvaliteedi ja kvantiteedi (Tomberlin *et al.*, 2002; Opare *et al.*, 2024a; Tschirner & Simon, 2015) ning temperatuuri (Tomberlin *et al.*, 2009; Shumo *et al.*, 2019; Opare *et al.*, 2022) mõjudele ogakärblase elukäigutunnustele. Viimasel ajal on hakatud uurima ka asustustiheduse mõjusid (Opare *et al.*, 2024b; Nayak & Klüber, 2025), kuid vähe on pööratud tähelepanu nende keskkonnategurite koosmõjudele ning mõjudele erinevates arengustaadiumites, näiteks eelnuku- ja nukustaadiumis.

Erinevalt mitmetest teistest putukatest on ogakärblasel seni tuvastatud kõrgele asustustihedusele vastuseks vaid standardne stressivastus – arenguperioodi pikenemine ja kehamõõtmete vähenemine (Barragán-Fonseca *et al.*, 2018; Dzepe *et al.*, 2020; Opare *et al.*, 2022). Siiski on oluline uurida, kas arenguperioodi pikenemine on sel liigil universaalne vastus kõrgele asustustihedusele või varieerub see sõltuvalt tiheduse tasemetest ja/või muudest keskkonnatingimustest. Samuti on varasemates uuringutes pööratud vähe tähelepanu eenuku-

ja nukustaadiumile. Enamike putukate puhul ei ole nende arengustaadiumite uurimine keskkonnamõjude võtmes kuigi praktiline (Lindstedt *et al.*, 2019), kuna see staadium kujutab endast vaid passiivset üleminekuperioodi aktiivselt vastselt aktiivseks valmikuks (Rolff *et al.*, 2019). Ogakärblane *H. illucens* on selles osas erandlik liik. Sel liigil esineb aktiivne eelnukustaadium, mille käigus isendid küll ei toitu ning sarnanevad välimuselt nukule, kuid on endiselt aktiivsed ja suutelised häiringutele reageerima (Gligorescu *et al.*, 2019; Opare *et al.*, 2023). On näidatud, et eelnukuperioodil eemaldutakse toiduobjektilt ning võetakse ette ulatuslikke rändeid, et leida parim nukkumispaik (Vo, 2020). Eelistatakse nukkuda rühmast eemal pinnasesse kaevunult, kaitstes end seeläbi kiskluse ja kuivamise eest (Holmes *et al.*, 2013). Kuigi ogakärblase kohta nukustaadiumi uuringud puuduvad, on üksikutes putukatööstuse seisukohalt tehtud töödes käsitletud ka nukustaadiumis asustustustiheduse mõju ning leitud, et kõrge nukutihedus võib mõjuda negatiivselt elukäigutunnustele (Andress *et al.*, 2015; Elaini *et al.*, 2020). See viitab vajadusele uurida eelnuku- ja nukustaadiumi põhjalikumalt. Samuti on eelnevates uuringutes kasutatud geneetiliselt muundatud liike, mistõttu saadud tulemusi ei saa looduslikele tingimustele üle kanda (Elaini *et al.*, 2020). Lisaks on neis uurimustes käsitletud vaid valmikute elujõulisust ja viljakust, teised elukäigutunnused ning vastse- ja nukutiheduse koosmõju analüüsid on aga jäänud tähelepanu alt välja (Andress *et al.*, 2015; Elaini *et al.*, 2020).

Magistritöös uuriti asustustiheduse mõju ogakärblase *H. illucens* elukäigutunnustele erinevates arengustaadiumites, keskendudes vastse- ja eelnuku- ning nukustaadiumis kogetud asustustiheduse mõjudele vastse-, eelnuku- nuku- ja valmikustaadiumi elukäigutunnustele. Uurimistöö eesmärk oli välja selgitada, kuidas mõjutab asustustihedus ogakärblase arengustaadiumite kestust ja isendite massi ning kas eri arengustaadiumites tajutud asustustihedus võib avaldada isenditele erinevat mõju. Samuti kasutati vastsestaadiumi asustustiheduse töötluses tavapärasest madalamaid asustustihedusi selgitamaks, kas ogakärblasel avaldub sellistes tingimustes standardne stressivastus või hoopis vastus, mida on täheldatud paljudel teistel putukaliikidel, nimelt kõrgema tiheduse signaalina tajumine ning selle tulemusel vastseperioodi lühenemine. Magistritöö põhifookuseks oli vastsestaadiumi asustustiheduse mõju selgitamise kõrval ka eelnuku- ja nukustaadiumis asustustiheduse mõju uurimine, millele senistes ogakärblase uuringutes on väga vähe tähelepanu pööratud. Kuna *H. illucens* on ka eelnukuna võimeline keskkonnast saadud signaale tajuma ja neile reageerima, (Giannetti *et al.*, 2022) võib eeldada, et asustustiheduse mõju ei piirdu üksnes vastsestaadiumiga, vaid võib ulatuda ka eelnuku- ja nukuperioodi.

Katsetes kasvatati ogakärblase vastseid esmalt kahel erineval asustustiheduse tasemel – kõrgel ja madalal. Seejärel jagati mõlemast vastsetihedusest pärit eelnukud kolme nukutiheduse töötlusesse, paigutades vastavalt 1, 5 või 10 isendit purgi kohta. Sellise lähenemisega saadi kokku kuus erinevat kombinatsiooni (vastsetihedus × nukutihedus), mis võimaldas uurida nii vastsetiheduse kui ka (eel)nukutiheduse pea- ja koosmõjusid isendite elukäigutunnustele. Uuriti järgmisi elukäigutunnuseid: eelnuku mass, valmiku mass, vastseperioodi kestus (umbkaudne vastse koorumine kuni eelnukuks kujunemiseni), nukuperioodi kestus (alates eelnukuks arenemisest kuni valmiku koorumiseni), valmiku eluiga (valmiku koorumisest kuni surmani), juveniilperioodi kestus (vastse koorumine hetkest kuni valmiku koorumiseni), valmiku mass (24 h peale koorumist) ning valmiku kuivmass. Samuti määrati iga valmiku sugu. Magistritöö täidab varasemates uuringutes tähelepanuta jäänud aktiivse eelnukustaadiumi uurimislünga, analüüsides, kuidas erinevad asustustiheduse tingimused mõjutavad *Hermetia illucens* arengut mitte üksnes vastseperioodil, vaid ka järgnevatel arenguetappidel.

2. METOODIKA

2.1. Uurimisobjekti kirjeldus

Uurimisobjektiks oli ogakärblaste sugukonda kuuluv liik *Hermetia illucens*, mis on pärit Lõuna-Ameerika savanni piirkonnast (Liu *et al.*, 2019), kuid inimese kaasabil ja potentsiaalselt ka kliimasoojenemise tõttu (Pazmiño-Palomino *et al.*, 2022) on nüüdseks liik levinud laialdaselt troopilistel ja subtroopilistel aladel ning mõningal määral ka parasvöötme piirkondades (da Silva & Hesselberg, 2020). Tänapäeval on liik levinud ka Euroopas, kuid ainult soojemates regioonides ning levik on sageli seotud inimtegevusega, näiteks biolagunevate jäätmete käitluse või spetsialiseeritud kasvatuste kaudu toimunud juhusliku introduktsiooniga (Kaya *et al.*, 2021).

H. illucens on saprotroofne liik ehk vastsestaadium on tihedalt seotud orgaanilise aine lagundamisega (Liu *et al.*, 2019). Peamine toitumine ja kasv toimubki vastsestaadiumis, kus vastsed toituvad erineval laguneval orgaanikal, nagu mädanevad puuviljad, sõnnik ja korjused (Tomberlin *et al.*, 2002). On arvatud, et valmikuna selle liigi isendid ei toitu, kuid uuemad uuringud on näidanud, et nad on võimelised tarbima vett või nektarit (Macavei *et al.*, 2020). Vastsed läbivad enne nukkumist seitse kasvujärku ning olenevalt temperatuurist, asustustihedusest ja muudest kasvutingimustest võib kogu vastseperiood kesta umbes 16 – 20 päeva (Giannetti *et al.*, 2022). Optimaalne vastsete arenguaeg saavutatakse temperatuuril 27 – 30 °C (Tomberlin *et al.*, 2009).

I kuni VI kasvujärgus elavad vastsed agregeeritult ja toituvad ühisel toiduressursil, tõstes termoregulatsiooni abil keskkonna temperatuuri, mis omakorda parandab toidu lagundamise tõhusust grupiviisilise ensümaatilise tegevuse kaudu (Barragan-Fonseca *et al.*, 2018). VII kasvujärgu vastset nimetatakse eelnukuks ning selles staadiumis on vastse suised taandarenenud ning toitumine lõppenud (Giannetti *et al.*, 2022). Sellel hetkel on vastse värvus muutunud selgelt tumepruuniks ning vastne hakkab otsima paika nukkumiseks (Gligorescu *et al.*, 2019).

Areng eelnukust valmikuni toimub 27 °C juures umbes 18 päevaga (Gligorescu *et al.*, 2019), kuid nukuperiood sellest kestab umbes neli päeva (Witono *et al.*, 2024). Täiskasvanud isendid elavad maksimaalselt 20 päeva (Gligorescu *et al.*, 2019), kuid keskmiselt jääb valmikute eluiga umbes kuue kuni kaheksa päeva juurde (Witono *et al.*, 2024), mille jooksul toimub paaritumine

ja munemine (Tomberlin *et al.*, 2002). Paaritumine võib alata juba kaks päeva peale valmiku koorumist ning eeldusel, et isend eluperioodi jooksul ei hukku, on emased võimelised korduvalt munema umbes 500 munast koosnevaid kogumeid (Diclaro II & Kaufman, 2009). Nagu putukatel valdavalt (Honěk, 1993), on ka ogakärblase kehasuurus oluline tegur viljakuse määramisel. On näidatud, et mida suurem on emaste nukukaal, seda rohkem mune ja massiivsemaid munakogumikke on nad valmikuna võimelised munema, sama positiivne seos kehtib ka emaste valmikute kehamassi ja nende munatootlikkuse vahel (Jones & Tomberlin, 2021; Shrestha et al., 2025). Samuti võivad suuremad kehamõõtmed isaste paaritumisedukust tõsta (Jones & Tomberlin, 2019).

Ogakärblane *Hermetia illucens* valiti uurimisobjektiks, sest sellel liigil esineb vastseperioodis vabatahtlik koondumine (Barragan-Fonseca *et al.*, 2018), kuid eelnuku staadiumis toimub nukkumisränne, kus välditakse teisi isendeid ning lahkutakse toiduobjekti juurest, et leida sobiv paik nukkumiseks (Gligorescu *et al.*, 2019). Nende tunnuste tõttu on ogakärblase eelnukustaadium eriti huvipakkuv asustustiheduse kontekstis. Lisaks on töörühmal varasem kogemus selle liigi laboratoorsel kasvatamisel ning nn visuaalselt täheldatud, et eelnukud lahkuvad söötmelt ja taastavad pärast ärritust oma aktiivsuse, kuid neid nähtusi ei ole seni süstemaatiliselt uuritud (Opare *et al.*, 2022; Opare *et al.*, 2023).

2.2. Asustustiheduse katse – vastsestaadium

Katsesse valitud isendid olid pärit 31.01.2024 – 01.02.2024 Tartu Ülikooli ogakärblase *H. illucens* kultuuris munetud munadest ning koorunud perioodil 02.02.24 – 06.02.24. Katset alustati 09.02.2024, mil jagati vastsed vastsestaadiumitöötlustesse jälgides, et eri suurusega isendid oleksid töötlusrühmade vahel võimalikult võrdselt esindatud (vastsed olid keskmiselt viie päeva vanused). Madala asustustiheduse töötluses oli 1,5 isendit cm^2 purgipõhja pindala kohta. Igasse 63,6 cm^2 põhjapindalaga purki loendati 95 isendit, kokku viis madala asustustiheduse replikaati. Kõrge asustustiheduse töötluses kasutati samade mõõtmetega purke, kuid asustustiheduseks võeti 7,5 isendit cm^2 purgipõhja pindala kohta. Igasse purki loendati 477 isendit, kokku kolm kõrge asustustiheduse replikaati. Igasse purki lisati katse alguses 100 g söödasubstraati, milleks kasutati vees leotatud koeratoitu. Substraadiks valiti koeratoit, kuna uurimisrühmal on selle söödaga varasem kogemus ja see on andnud häid tulemusi *H. illucens* vastsete kasvatamisel. Lisaks on koeratoidu kasutamise eeliseks hallituse aeglasem

teke võrreldes kanasöödaga, mida on samuti eelnevates uuringutes kasutatud (Opare *et al.*, 2022). Söödasegu valmistati 24 h enne katses kasutamist, vahekorras 1:2 vastavalt koerakrõbinad ja vesi. Kuna eelnevad uuringud on näidanud, et optimaalne temperatuur ogakärblase vastsete kasvatamiseks on 27 – 30 °C (Opare *et al.*, 2022), siis hoiti isendeid kasvatuskapis 27 °C juures. Katset jälgiti igapäevaselt ning söödet lisati umbes iga kolme päeva tagant 100 g kaupa. Topsid kaeti gaasivahetuse tagamiseks musliinriide lapiga, mis kinnitati kummipaelaga. Kuna substraadi pealmine kiht kuivas kiiresti ning häiris vastsete elutegevust, siis niisutati substraati veepritsiga ja segati umbes kolm korda nädalas.

2.3. Asustustiheduse katse – eelnuku- ja nukustaadium

Esimesed isendid jõudsid eelnukustaadiumisse nädal pärast vastsestaadiumi töötlusse jagamist. Eelnukustaadiumi määramine põhines isendite värvuse muutusel selgelt tumedaks ning vastsete aktiivsuse langusel, nagu on kirjeldanud May (1961) ja Tomberlin *et al.* (2009). Need tunnused võimaldavad eristada eelnukku aktiivselt toituvast vastsestaadiumist. Samas, kuigi eelnuku- ja nukustaadiumi vahelised erinevused eksisteerivad samuti, ei ole need alati selgelt nähtavad mikroskoopilise arengutaseme hindamiseta (Gligorescu *et al.*, 2019) ja seetõttu ei eristatud selles töös eelnuku- ja nukustaadiumeid.

Eelnukkude ilmnemisel jagati nii kõrge kui madala vastsetiheduse töötluste eelnukud võimalikult võrdselt kolme nukutiheduse töötlusesse nii, et igasse töötlusesse jaotuks võrdne arv isendeid. Eelnukutiheduse ja nukutiheduse töötlused olid: üks (1N), viis (5N) ja 10 (10N) eelnukku/nukku purgis. Purgid olid mahuga 50 ml. Iga replikaadi kohta üritati koguda korraga 30 eelnukku, mis jagati 10 isendi kaupa igasse töötlusse: 1N töötluses oli 10 purki (10 isendit), 5N töötluses kaks purki (10 isendit) ja 10N töötluses üks purk (10 isendit). Sellist lähenemist korrati iga vastsestaadiumis madala asustustiheduse replikaadiga kolm korda ning kõrge asustustihedusega replikaadiga viis korda. Kuna peamiselt madalama asustustihedusega töötluse puhul esines probleem, et 30 eelnukku ei olnud korraga saadaval, siis hoiti eelnukke maksimaalselt kaks päeva kasvukapis, et saavutada soovitud eelnukkude arv.

Eesmärgiks oli saavutada nii madala kui ka kõrge asustustihedusega töötlusest 450 isendiga üldvalim. Soovitavaks koguvalimiks oli 900 isendit, kuid madala asustustiheduse töötluse puhul esinenud pika arenguaja või suure suremuse tõttu lõpetati isendite katsesse kogumine

enne, kui valimisse oli saadud plaanitud arv eelnukke. Kokku oli katses kõrge vastse asustustiheduse korral 450 isendit ja madala puhul 414 isendit. Enne eelnukkude katsesse jagamist registreeriti ka isendite mass. Samuti jälgiti, et igasse nukutöötlusesse jaguneks eri suurusega isendeid sarnases koguses.

Kuna eelnevad pilootkatsed näitasid, et üksikult purgis olnud eelnukkude keskkond oli kuivem kui rühmas olnud eelnukkudel, siis igasse nukutiheduse töötluse purki lisati 5 g niisutatud lehtpuusaepuru, et säilitada stabiilne niiskusaste töötluste lõikes. Segu valmistati vahekorras 1:1 (vesi ja saepuru). Varasemad uuringud on näidanud, et nukkumissubstraadi olemasolu suurendab valmikute edukat koorumist ning lehtpuusaepuru on osutunud üheks sobivamaks substraadiks (Holmes *et al.*, 2013). Kuna eelnuku perioodil on isendid võimelised olema veel aktiivsed (Gligorescu *et al.*, 2019), siis pidid purgid olema kaetud, et vältida isendite põgenemist. Eelnevate pilootkatsete põhjal leiti, et tavapärased topsikaaned ei taganud piisavat gaasivahetust ning samuti olid kaanes olevate aukude asetused ja suurused ebaühtlased topside lõikes. Seetõttu kaeti purgid 8 × 8 cm suuruse musliinriidega, mis kinnitati kummipaelaga. See takistas efektiivselt isendite põgenemist ja tagas ühtlase gaasivahetuse eri asustustihedusega töötluste lõikes. Kõiki purke hoiti kasvatuskapis 27 °C juures. Nukkude arengut jälgiti igapäevaselt ning eri töötluste purkide asukohti juhuslikustati restil ja kasvukapis.

2.4. Asustustiheduse katse – valmikustaadium

Esimesed valmikud koorusid umbes kaks nädalat pärast nukutöötlusesse jagamist. Valmikutel registreeriti koorumiskuupäev ning 24 tundi pärast koorumist määrati nende sugu ja mass. Valmikuid hoiti kasvukapis 50 ml suurustes topsides, mille põhjas oli umbes 5 g niisutatud lehtpuusaepuru (vahekorras 1:1 vastavalt vesi ja saepuru) kuni surmani ning registreeriti surmakuupäev. Seejärel hoiti isendeid külmkambris. Vahetult enne kuivatamist kaaluti surnud isendite mass uuesti ning seejärel kuivatati isendid kuivatuskapis 60 °C juures 72 h ning registreeriti kuivmass.

2.5. Andmeanalüüs

Analüüs keskendus sellele, kuidas vastse- ning eelnuku- ja nukutiheduse erinevad tasemed mõjutavad ogakärblase *H. illucens* arengukestust, kehamassi ning elumust. Täpsemalt selgitati eelnuku- ja nukutiheduse mõju elukäigutunnustele ning uuriti, millises vastseperioodis esinev asustustiheduse mõju on arengule määravaim ning kas ogakärblase arengule esineb ka koosmõju vastseperioodil ning eelnuku- ja nukuperioodil kogetud asustustiheduste vahel.

Andmeanalüüsiks kasutati lineaarseid segamudeleid (LMM) ja üldistatud lineaarseid segamudeleid (GLMM). Sõltuvate muutujatena kasutati mudelites vastseperioodi kestust (eelnuku aeg – keskmine vastse koorumisaeg), eelnuku- ja nukuperioodi kestust (valmiku koorumise aeg – eelnuku aeg), juveniilperioodi kestust (valmiku koorumise aeg – vastse koorumise aeg), valmiku eluiga (valmiku suremise aeg – valmiku koorumise aeg) ning valmiku märg- ning kuivmassi. Sõltumatute muutujatena kasutati vastsetiheduse (kõrge/madal) ning eelnuku- ja nukutiheduse (1, 5 või 10 isendit purgis) töötlusi. Juhuslike faktoritena kasutati vastsetöötluse ID-d ja nukutöötluse ID-d. Mudelite eelduste kontrollimiseks koostati jääkide sagedusjaotused. Kuna eelnuku- ja nukuperioodi, juveniilperioodi ning valmikuperioodi pikkuste puhul ei olnud jääkide normaaljaotuse eeldus täidetud, siis kasutati naturaallogaritmimise transformatsiooni. Suremusanalüüsiks koostati üldistatud lineaarne segamudel (GLMM) binomiaalse jaotusega, kus sõltuv muutuja oli „elus/surnud“ (1/0) ning sõltumatuteks muutujateks vastsetihedus, nukutihedus ja nende interaktsioon. Juhuslike faktoritena kasutati taas vastsetöötluse ID-d ja nukutöötluse ID-d.

Vastse nukkumise ja nukust valmiku koorumise vahelise perioodi andmeid ei olnud eelnuku- ja nukuperioodil rühmades hoitud isendite puhul võimalik ühildada eelnuku ja vastseperioodi andmetega. Kuna selle liigi isendid võivad hilises arengujärgus enne lõplikku nukuks kujunemist veelkord kestuda, poleks märgised kestumise käigus alles jäänud (Bruno *et al.*, 2025). Seetõttu ei olnud rühmas olevate isendite individuaalne märgistamine võimalik, mistõttu kasutati analüüsis permutatsioonipõhist meetodit. Kogu andmestik järjestati nukutöötluse ID põhja. Analüüsiks loodi kaks alamandmestikku – esimesse (faas1) lisati vastseperioodi andmed ja nukuperioodi ID, et andmeid permuteerida, teise (faas2) nukuperioodi andmed. Permutatsioonides juhuslikustati faas1 andmed iga nukutihedus ID sees, ühendati need faas 2 andmetega ja sobitati lineaarne segamõjumudel naturaallogaritmitud juveniilperioodi kohta (Pesarin & Salmaso, 2010), kus sõltumatute muutujatena kasutati

vastsetihedust ja nukutihedust ning juhusliku faktorina nukutiheduse ID-d. Kuna dispersioon erines eri rühmade vahel, siis mudelis lubati iga vastsetiheduse ja nukutiheduse kombinatsiooni korral erinevat dispersiooni, kasutades selleks varIdent funktsiooni, millega on võimalik segamudelil lubada iga etteantud grupi (või grupikombinatsiooni) jääkidel erineva suurusega dispersiooni (Pesarin & Salmaso, 2010).

Heteroskedastilisust eirates alahinnataks suure variatsiooniga rühmade standardvigu ja tulemuseks oleksid tegelikust väiksemad p-väärtused. VarIdent annab rühmapõhised standardhälbed ja korrigeerib tulemusi (Pinheiro *et al.*, 2007). Sõltuva muutuja (juveniilperioodi) analüüsil tehti 1000 permutatsiooni, kus mudelis analüüsiti vastseperioodi ja nukuperioodi asustustiheduse töötluste peamõjusid ja nende omavahelist interaktsiooni. Ühe permutatsiooni tulemusel saadi mudelist ANOVA analüüsi kaudu kolm p-väärtust: 1) efekti kohta, mis kajastab vastsetiheduse töötluse mõju; 2) efekti kohta, mis kajastab nukutiheduse töötluse mõju, ning lisaks 3) töötluste interaktsioon. Kõigi permutatsioonide jooksul talletati p-väärtused, mille jaotusi visualiseeriti histogrammidena. Kui histogrammil kujutatud p-väärtused on kõik väiksemad kui 0,05, siis viitab see, et hoolimata kahe andmeploki omavahelise täpse vastavuse mitteteadmisest, on tuvastatud efekti mõju statistiliselt oluline, see tähendab, et on alla 5% tõenäosus, et nähtav tulemus saadi juhuslikult.

Andmeanalüüs viidi läbi tarkvaraprogrammis R stuudio (RStudio versioon 2024.12.1+563, R versioon 4.4.3). Segamudelite rakendamiseks kasutati R-pakette lme4 (Bates *et al.*, 2015) ja permuteerimismudeli puhul nlme (Pinheiro *et al.*, 2007). Üldistatud lineaarse segamudeli dispersioonanalüüsi läbiviimiseks kasutati car paketti (Fox *et al.*, 2007). Rühmade keskmiste leidmiseks kasutati paketti emmeans (Lenth *et al.*, 2022). III tüüpi dispersioonanalüüside läbiviimiseks kasutati lmerTest paketti (Kuznetsova *et al.*, 2017).

2.6. Töö autori roll

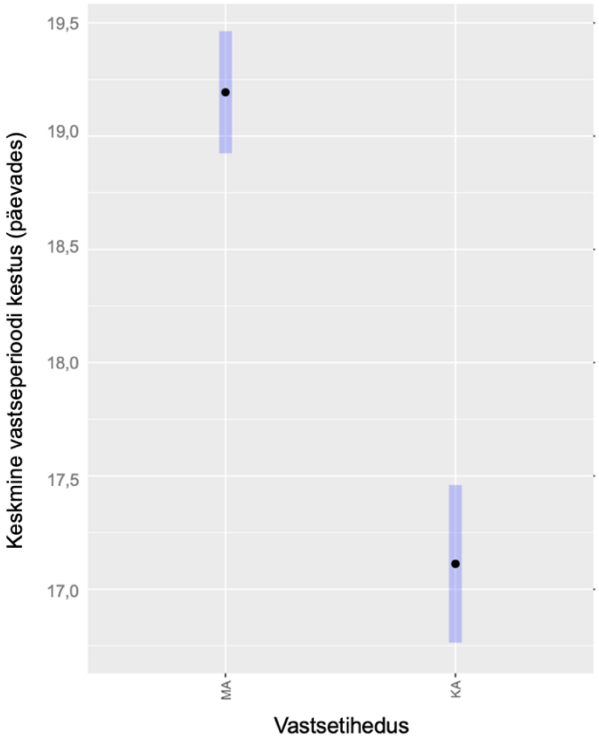
Magistritöö autoril oli juhtiv roll töö valmimise kõikides etappides. Eksperimentaalosa läbiviimisel osales töö autor juhendajate kaasabil katse ülespanekul, monitoorimisel, sööda lisamisel, kaalumistel ning arenguaegade registreerimisel. Valmikute sugude määramise viis autor läbi iseseisvalt, tuginedes eelnevalt omandatud väljaõppele. Andmeanalüüs viidi läbi koostöös statistikuga.

3. TULEMUSED

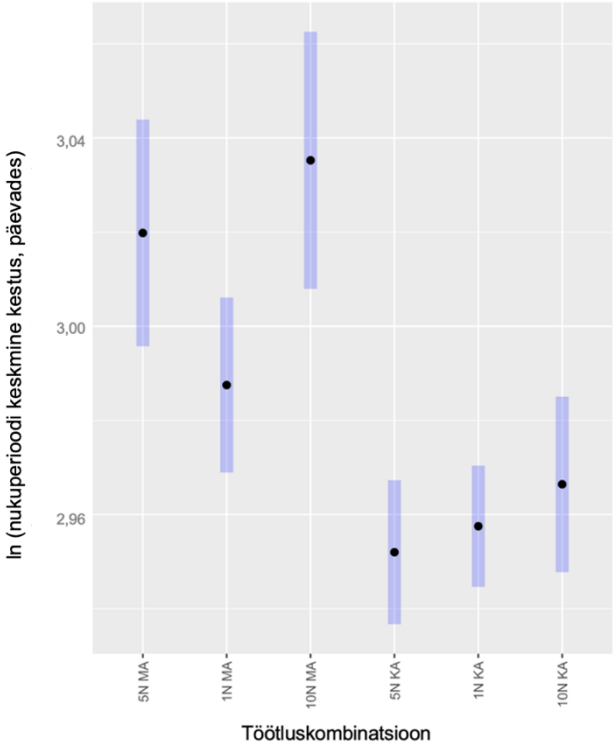
3.1. Arengustaadiumite kestused

Vastseperioodi kestust mõõdeti keskmise vastse koorumiskuupäeva hetkest (04.02.24), kuni eelnukuks arenemiseni. Järgnevalt registreeriti valmiku koorumiskuupäev ja surma kuupäev (valmiku eluiga). Juveniilperioodi kestus määrati vastseperioodist kuni valmiku koorumise hetkeni. Täpsemalt saadi juveniilperioodi kestus permuteerimise tulemusena, kus mudel ühildas rühmas olnud isendite puhul juhuslikustatult vastseperioodi ja eelnukust valmikuni kestva perioodi pikkuse.

Vastsetihedusel oli statistiliselt oluline mõju vastseperioodi kestusele (Tabel 1). Kõrgemal vastsetihedusel kasvanud isenditel võttis keskmiselt umbes kaks päeva (11%) vähem aega, et areneda eelnukuks (Joonis 1). Samuti oli oluline vastseperioodi asustustiheduse mõju eelnuku- ja nukuperioodi kestusele (arengu kestus eelnukust kuni valmiku koorumiseni) (Tabel 1). Täpsemalt esines kõrgel vastsete asustustihedusel kasvanud isenditel lühem nukuperiood (~9%) võrreldes madala vastsete asustustiheduse juures kasvanud isenditega (Joonis 2). Nukuperioodi kestuse puhul tuli asustustiheduse töötluste interaktsioon (vastsetihedus × nukutihedus) marginaalselt mitteoluliseks ($p = 0,057$). Siiski on jooniselt näha, et tendents kõige pikemale nukuperioodi kestusele esines isenditel, kes olid kasvanud vastsestaadiumis madalal asustustihedusel ning nukuperioodil olnud kõige kõrgemal nukutihedusel (10N), samas kui kõrgel vastsetihedusel ei olnud eri nukutiheduse rühmade vahel olulisi erinevusi (Joonis 2). Madala vastsetiheduse rühmas oli keskmiselt kõige lühem nukuperiood nendel isenditel, kes olid nukustaadiumis üksikult (1N). Seega avaldas kõrge nukutihedus tugevamat mõju isenditele, kes olid kasvanud madala vastsetiheduse tingimustes, võrreldes kõrge vastsetihedusega rühmaga.



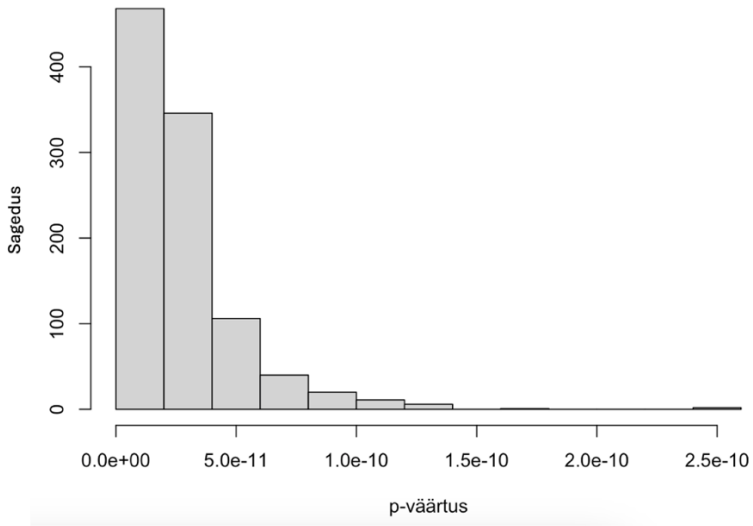
Joonis 1. Vastsestaadiumi asustustiheduse mõju vastseperioodi pikkusele, rühmade keskmised 95% usaldusvahemikuga. MA – madal vastsetihedus, KA – kõrge vastsetihedus.



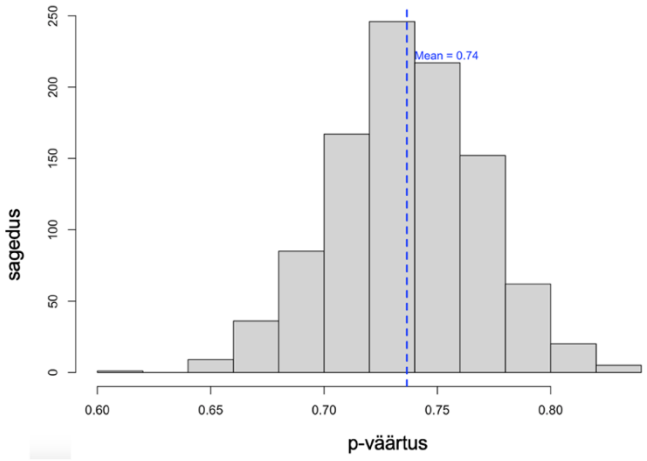
Joonis 2. Vastsetiheduse ja (eel-)nukutiheduse mõju (eel-)nukuperioodi pikkusele. Joonisel on töötlusrühmade keskmised koos 95% usaldusvahemikuga logaritmskaalal. MA – madal vastsetihedus, KA – kõrge vastsetihedus. 1N – nukuperioodis üksi topsis, 5N – nukuperioodis viis isendit topsis, 10N - nukuperioodis 10 isendit topsis.

Vastseperioodi töötluse mõju juveniilperioodile (vastseperiood + eelnukuperiood + nukuperiood) tuli selgelt oluliseks, 100% p-väärtustest jäid alla 0,05 künnise (Joonis 3). See tähendab, et iga permuteerimise korral on töötluse mõju usaldusväärselt olemas. Nii nukutöötluse kui ka mõlema töötluse interaktsioon osutusid mitteolulisteks, kus nukutöötluse puhul jäi keskmine p-väärtus 0,74 juurde (Joonis 4). Töötluste interaktsioon jäi marginaalselt mitteoluliseks – p-väärtused jäid keskmiselt 0,071 juurde (Joonis 5). Esines tendents, et madala vastsetiheduse ja kõrge nukutiheduse juures hoitud isendite juveniilperiood oli pikem kui

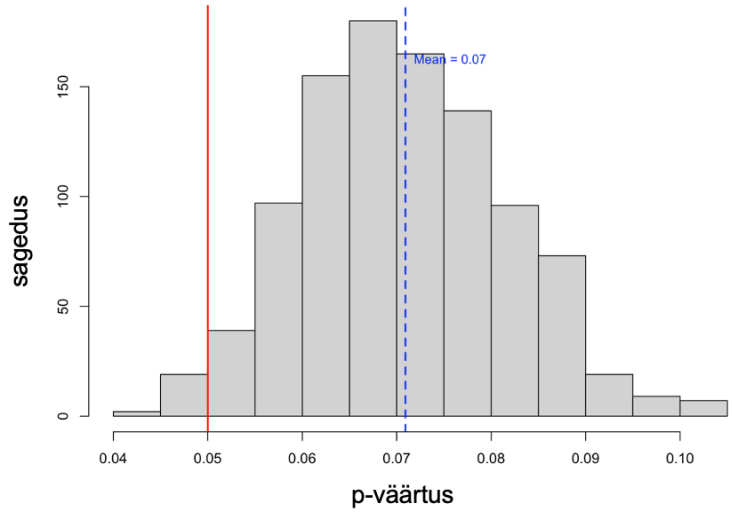
madala nukutiheduse juures hoitutel (Joonis 6). Koostati ka hinnangulised mudeli keskmised iga töötluse kombinatsiooni jaoks (Joonis 6). Taas selgus, et vaid vastsetöötluse mõju oli oluline, madala asustustiheduse töötluse isenditel oli pikem juveniilperioodi pikkus kui kõrge asustustiheduse töötluse isenditel (Joonis 6). Sama tulemust kinnitab algandmete visualiseerimiseks koostatud karpdiagramm, millest ilmneb, et madalamal vastsetihedusel kasvanud isenditel on pikem juveniilperioodi kestus võrreldes kõrgel asustustihedusel kasvanud vastsetega (Joonis 7).



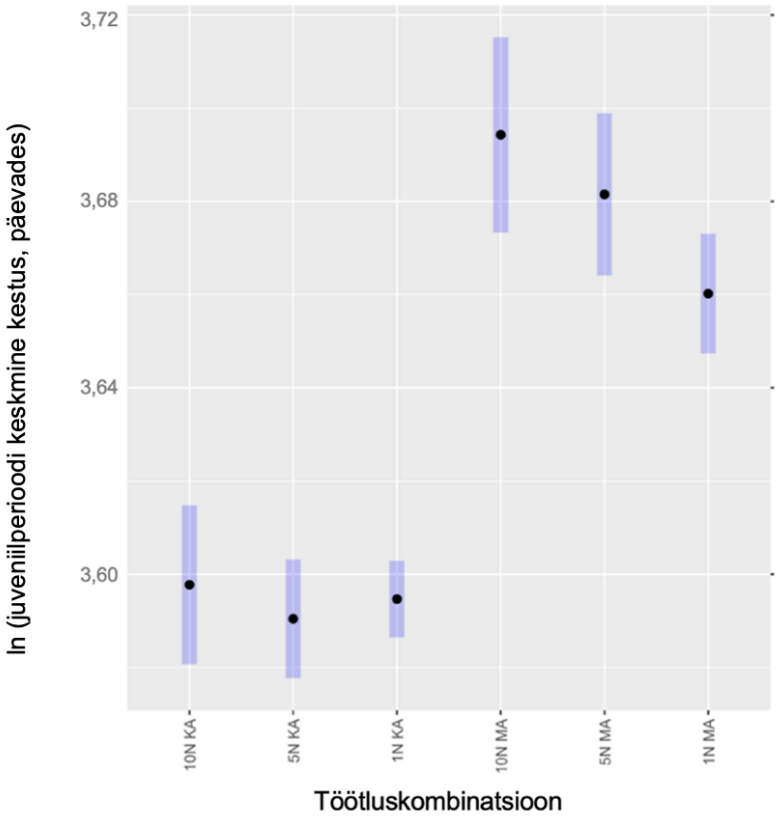
Joonis 3. Vastsetiheduse töötluse mõju juveniilperioodi kestusele. 1000 permutatsiooni tulemusel saadud p-väärtuste sagedusjaotus.



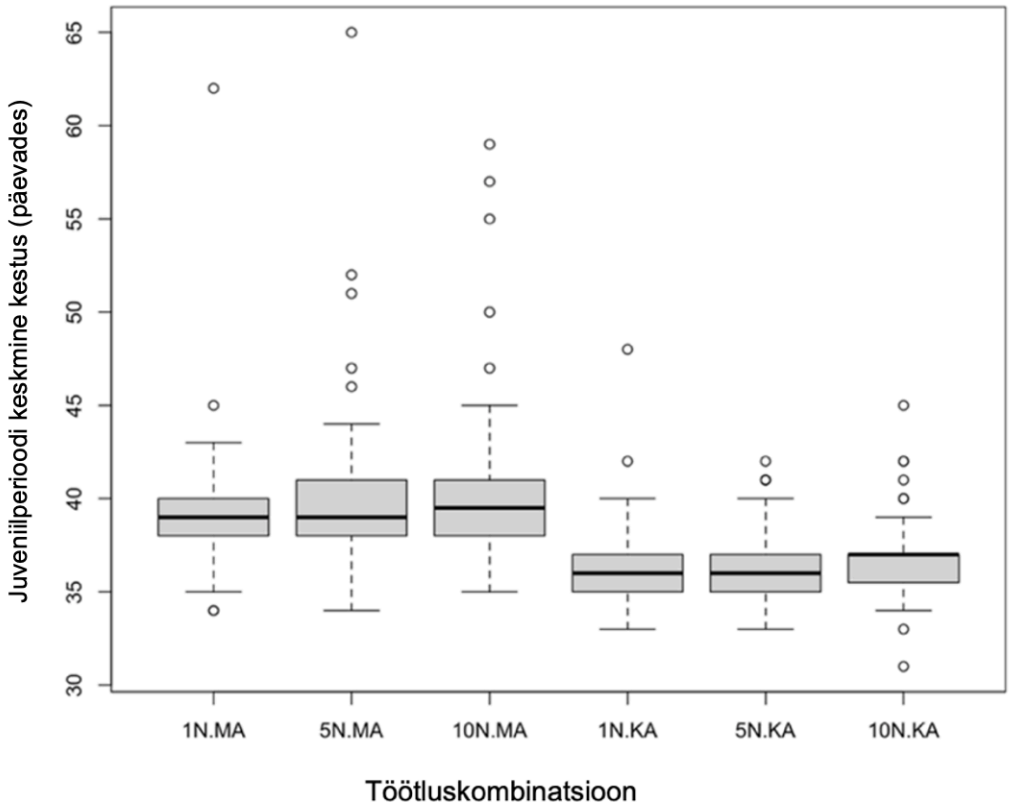
Joonis 4. Nukutiheduse töötluse mõju juveniilperioodi kestusele. 1000 permutatsiooni tulemusel saadud p-väärtuste sagedusjaotus.



Joonis 5. Töötluste (vastsetihedus × (eel)nukutihedus) interaktsiooni mõju juveniilperioodi kestusele. 1000 permutatsiooni tulemusel saadud p-väärtuste sagedusjaotus. Punane joon tähistab p-väärtuse 0,05 künnist.

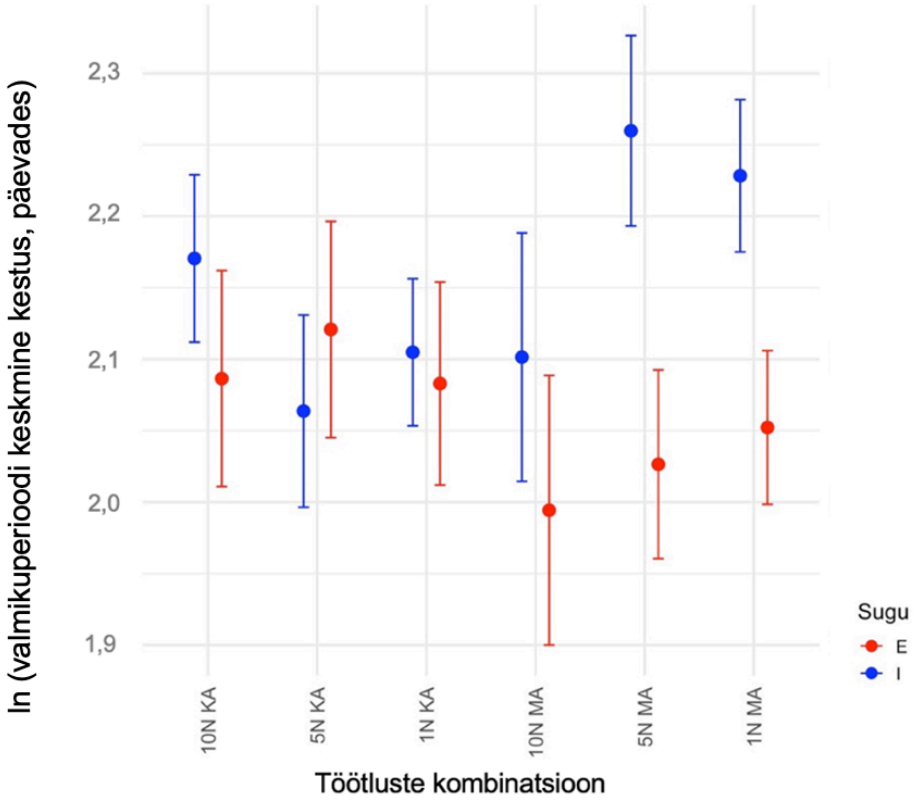


Joonis 6. Töötlusrühmade keskmised juveniilperioodi kestused koos 95% usaldusvahemikuga logaritmskaalal. MA – madal vastsetihedus, KA – kõrge vastsetihedus. 1N – nukuperioodis üksi topsis, 5N – nukuperioodis viis isendit topsis, 10N - nukuperioodis 10 isendit topsis.



Joonis 7. Juveniilperioodi kestus tihedustöötluste lõikes. Keskmine joon on mediaan, kasti servad näitavad 1. ja 3. kvartiili (50% andmetest). Ringid tähistavad erindeid; vurrud ulatuvad väärtusteni, mis jäävad kastist väljapoole, kuid ei kvalifitseeru erinditeks (coef = 1,5).

Valmikuperioodi kestusele ükski peamõju oluliseks ei tulnud, kuid esines statistiliselt oluline kolmene koosmõju (Tabel 1). Madala vastsetihedusega rühmas esines selge erinevus sugudevahelisel eluea kestusel, samas kui kõrge vastsetiheduse puhul ei esinenud valmikute elueas emaste ja isaste vahel suuri erinevusi (Joonis 8). Isaste puhul esines vastupidine reaktsioon vastsetiheduse ja nukutiheduse võrdluses, kus madala vastsetiheduse juures oli pikim eluiga nendel isastel, kes olid nukuperioodis madala ja keskmise nukutiheduse juures (1N ja 5N), kuid lühim neil, kes olid nukuperioodis kõrgel tihedusel (10N). Kõrge vastsetiheduse puhul esines vastupidine tulemus, kus pikim eluperiood oli nendel isastel, kes nukuperioodis olid kõrgel tihedusel (10N) ja lühim madala ja keskmise nukutiheduse juures (1N ja 5N). Erinevus oli kõige suurem nende isendite puhul, kes hiljem olid nukustaadiumis 10 kaupa purgis. Vastseperioodil madalal asustustihedusel ja nukuperioodil kõrgel asustustihedusel (MA 10N) kasvanud emaste valmikuperioodi kestus oli keskmiselt lühem kui kõikide teiste töötluste isenditel (Joonis 8).



Joonis 8. Töötlusrühmade keskmised valmiku eluea pikkused koos 95% usaldusvahemikuga logaritmskaalal. MA – madal vastsetihedus, KA – kõrge vastsetihedus. 1N – nukuperioodis üksi topsis, 5N – nukuperioodis viis isendit topsis, 10N – nukuperioodis 10 isendit topsis. E tähistab emaseid ning I isaseid.

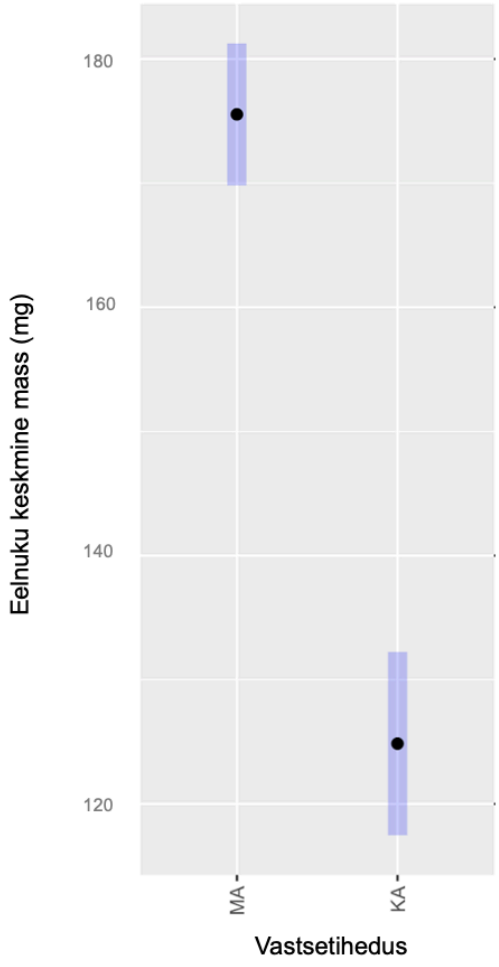
Tabel 1. Lineaarse segamudeli (LME) väljund vastsetiheduse ja (eel-)nukutiheduse mõjust vastse-, (eel-)nuku- ja valmikuperioodi pikkustele.

Arenguaeg	Võrdlus	df	F	P
Vastseperioodi pikkus	Vastsetihedus	1; 6	109,1	< 0,0001
Eelnuku- ja nukuperioodi pikkus	Vastsetihedus	1; 312	16,7	< 0,0001
	Nukutihedus	2; 312	0,7	0,50
	Vastsetihedus*Nukutihedus	2; 312	2,9	0,057

Arenguaeg	Võrdlus	df	F	P
Valmikuperioodi kestus	Vastsetihedus	1; 311	2,3	0,13
	Nukutihedus	2; 311	0,3	0,74
	Sugu	1; 390	3,5	0,063
	Vastsetihedus* Nukutihedus	2; 311	0,6	0,58
	Vastsetihedus*Sugu	1; 390	0,1	0,77
	Nukutihedus*Sugu	2; 390	2,2	0,11
	Vastsetihedus* Nukutihedus*Sugu	2; 390	3,4	0,034

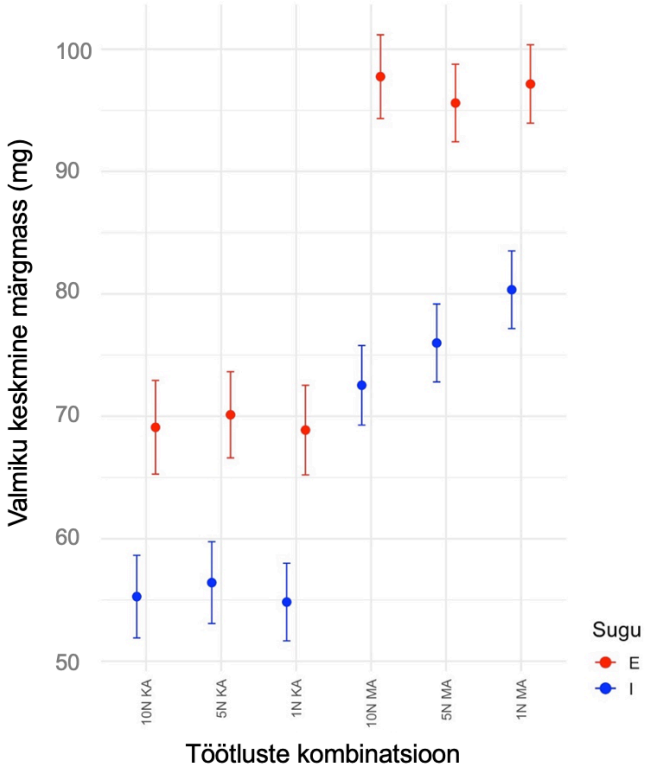
3.2. Kehamass

Vastsestaadiumi asustustihedusel oli selge mõju eelnuku massile (Tabel 2). Kõrgel asustustihedusel kasvanud isendite mass oli eelnukuna umbes 29% väiksem kui madalal asustustihedusel kasvanud isendite eelnukumass, keskmiste vahe oli umbes 50 mg (Joonis 9). Selge mõju oli ka vastsestaadiumi asustustihedusel valmiku märgmassile (Tabel 2), kus samuti kõrgemal asustustihedusel kasvanud vastsed olid valmikuna 30% väiksema massiga kui madalal asustustihedusel kasvanud isendid (vahe keskmiselt umbes 20 mg) (Joonis 10). Vastsestaadiumi asustustiheduse mõju osutus statistiliselt oluliseks ka valmiku kuivmassile. Kõrgel asustustihedusel kasvanud isendite valmiku kuivmass oli umbes 36% väiksem kui madalal asustustihedusel kasvanud isenditel, vahe keskmiselt umbes 10 mg (Joonis 11).



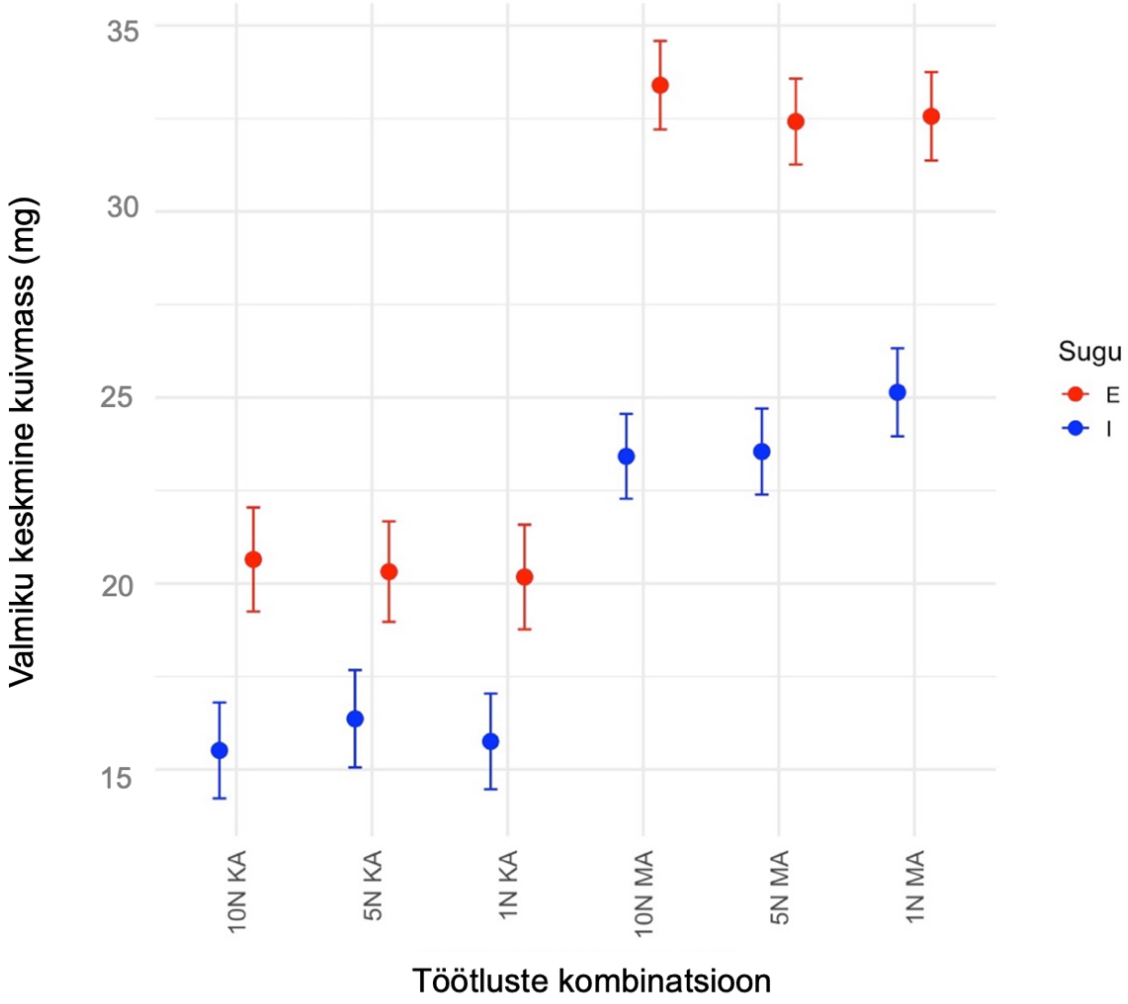
Joonis 9. Vastsestaadiumi asustustiheduse mõju eelnuku massile (mg), rühmade keskmised 95% usaldusvahemikuga. MA – madal vastsetihedus, KA – kõrge vastsetihedus.

Keskmine valmiku märgmass erines statistiliselt oluliselt sooti ($p < 0,0001$). Isaste mass oli emaste omast umbes 21% väiksem (vahe keskmiselt umbes 17,2 mg) (Joonis 10). Esines ka statistiliselt oluline vastsestaadiumi ja nukustaadiumi asustustiheduste mõju interaktsioon valmiku märgmassile (Tabel 2). Madalal vastsetihedusel kasvanud isendite puhul oli nukutiheduse mõju valmiku massile tugevam kui kõrgel vastsetihedusel kasvanud valmikutel (Joonis 10). Madala vastsetiheduse juures esines nukutiheduse rühmade vahel suuremaid erinevusi, kuid kõrge vastsetiheduse puhul ei esinenud erinevate nukutiheduse rühmade vahel selgeid erinevusi. Suurima keskmise valmikumassi saavutasid madala vastsetiheduse ja madalaima nukutiheduse rühma isendid (1N MA) (Joonis 10). Valmiku massile esines ka statistiliselt oluline vastsetiheduse ja soo interaktsioon (Tabel 2), kus madalama vastsetiheduse juures kasvanutel olid sugudevahelised vahed valmiku märgmassis suuremad kui kõrgemal vastsetihedusel kasvanutel (Joonis 10). Valmiku märgmassi puhul tuli marginaalselt statistiliselt mitteoluliseks nukutiheduse ja soo interaktsioon ning vastsetiheduse, nukutiheduse ja soo kolmene koosmõju (Tabel 2).



Joonis 10. Töötlusrühmade keskmised valmiku märgmassid (mg) 95% usaldusvahemikuga. MA – madal vastsetihedus, KA – kõrge vastsetihedus. 1N – nukuperioodis üksi topsis, 5N – nukuperioodis viis isendit topsis, 10N - nukuperioodis 10 isendit topsis.

Sugu tuli ka kuivmassi analüüsis statistiliselt oluliseks (Tabel 2). Isaste kuivmass oli emaste omast umbes 25% väiksem (vahe keskmiselt umbes 6,6 mg) (Joonis 11). Samuti tuli oluliseks vastsetiheduse ja soo interaktsioon ($p < 0,0001$). Madalal vastsetihedusel olid vahed emaste ja isaste massis suuremad kui kõrgel vastsetihedusel.



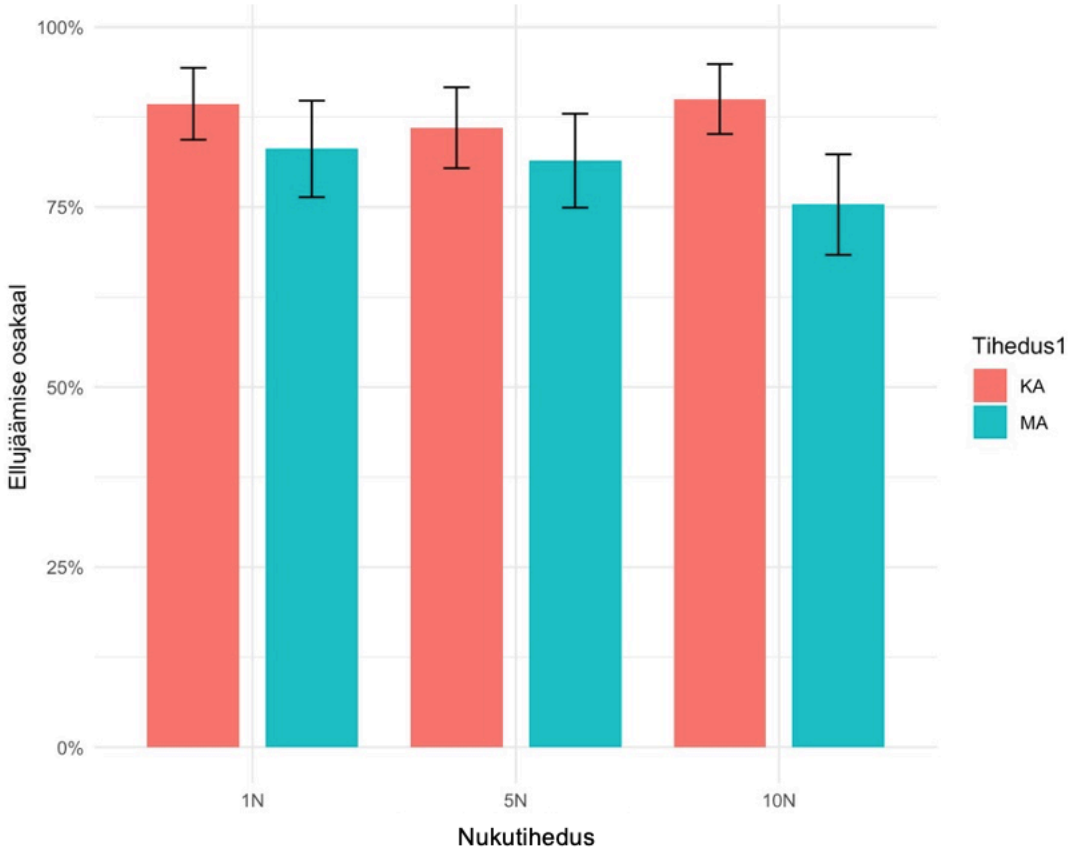
Joonis 11. Töötlusrühmade keskmised valmiku kuivmassid (mg) 95% usaldusvahemikuga. MA – madal vastsetihedus, KA – kõrge vastsetihedus. 1N – nukuperioodis üksi topsis, 5N – nukuperioodis viis isendit topsis, 10N - nukuperioodis 10 isendit topsis.

Tabel 2 Lineaarse segamudeli (LMER) väljund vastsetiheduse ja (eel)nukutiheduse mõjust eelnuku massile ning valmiku märg- ja kuivmassile.

Mass	Võrdlus	df	F	P
Eelnuku mass	Vastsetihedus	1; 6,1	181,7	< 0,0001
Valmiku märgmass	Vastsetihedus	1; 6,3	253,7	< 0,0001
	Nukutihedus	2; 138,2	1,3	0,29
	Sugu	1; 699,5	529,9	< 0,0001
	Vastsetihedus* Nukutihedus	2; 138,2	3,06	0,050
	Vastsetihedus*Sugu	1; 699,5	20	< 0,0001
	Nukutihedus*Sugu	2; 697,9	2,6	0,074
	Vastsetihedus* Nukutihedus*Sugu	2; 697,9	2,8	0,061
Valmiku kuivmass	Vastsetihedus	1; 23,6	211,3	< 0,0001
	Nukutihedus	2; 697	0,3	0,77
	Sugu	1; 697,5	75,1	< 0,0001
	Vastsetihedus* Nukutihedus	2; 697,7	0,3	0,77
	Vastsetihedus*Sugu	1; 699,1	31,9	< 0,0001
	Nukutihedus*Sugu	2; 697,9	1,02	0,36
	Vastsetihedus* Nukutihedus*Sugu	2; 698,5	1,6	0,21

3.3. Suremus

Suremusanalüüsil hinnati, kui suur osa isenditest ei jõudnud eelnuku staadiumist valmikuks. Selleks koostati üldistatud lineaarne segamudel (GLMM) binomiaalse jaotusega, mille tulemustest selgus, et suremusele avaldas statistiliselt olulist mõju vaid vastsetiheduse töötlus ($\chi^2(1) = 11{,}22$; $p < 0{,}001$),), samas kui nukutiheduse töötlus ($\chi^2(2) = 0{,}94$; $p = 0{,}62$) ja töötluste interaktsioon ($\chi^2(2) = 2{,}75$; $p = 0{,}25$) ei osutunud oluliseks. Täpsemalt osutus madala vastsetiheduse töötluse isendite elumus eelnuku- ja nukustaadiumis väiksemaks kui kõrge asustustiheduse juures kasvanud isenditel (Joonis 12).



Joonis 12. Ellujäämise osakaal erinevates asustustiheduse töötlustes. Vurrud tähistavad 95% usalduspiire. MA – madal vastsetihedus, KA – kõrge vastsetihedus. 1N – nukuperioodis üksi topsis, 5N – nukuperioodis viis isendit topsis, 10N - nukuperioodis 10 isendit topsis.

4. ARUTELU

Vastsestaadiumi asustustiheduse mõju ogakärblase *Hermetia illucens* elukäigutunnustele oli oluline kogu elutsükli vältel. Madal vastsetihedus pikendas isendite arenguaega (pikem vastse-, nuku- ja juveniilperiood) ning viis kõrge vastsetiheduse töötlusega võrreldes suurema nukumassi ning ka suurema valmiku märg- ja kuivmassini. Kõrgel vastsetihedusel lühenes arenguaeg, kuid isendid jäid massilt väiksemateks. Nukutihedus iseseisvalt olulist mõju ei avaldanud, kuid mõjutas valmiku massi koosmõjus vastsetihedusega ning valmiku eluiga kolmeses koosmõjus vastsetiheduse ja sooga. Samuti tuli vastsetiheduse ja nukutiheduse koosmõju marginaalselt mitteoluliseks eelnuku- ja nukuperioodi kestuse puhul. Kõrge nukutihedus pikendas eelnuku ja nukuperioodi ning vähendas valmiku massi eeskätt siis, kui vastsed olid varem kasvanud madala asustustiheduse tingimustes, kuid kõrgel vastsetihedusel kasvanud isendite puhul oli nukutiheduse mõju väiksem. Ellujäämus oli madala vastsetiheduse tingimustes väiksem, nukutiheduse mõju elumusele ei tulnud statistiliselt oluliseks. Emased olid isastest massilt raskemad ning eluea pikkust mõjutas oluliselt vastse-, nukutiheduse ja soo kolmene koosmõju, kus pikim eluiga esines isaste puhul.

Tulemused näitasid selgelt, et madal vastsestaadiumi asustustihedus võimaldas isenditel saavutada nii eelnuku- kui ka valmikuperioodil suurema massi võrreldes kõrgel asustustihedusel kasvanutega (Joonised 9 ja 10). Kõrge tihedus seevastu piiras suurema massi saavutamist. Kuna katses oli söödasubstraati rohkelt ning vastsestaadiumis lisati seda ka juurde, kui toit tundus hakkavat ammenduma, siis saab toidupuuduse kui peamise piirava teguri praktiliselt välistada. Pigem võis asustustiheduse stressi suureneda isenditevaheline füüsiline kontakt ning isendite agressiivne käitumine ja kannibalismioht (Weaver & Mcfarlanes, 1990; Chapman *et al.*, 1998; Collie *et al.*, 2020). On näidatud, et ka ilma toidupuuduseta võib tihedusega seotud stress avalduda kehamassile sarnaselt toidustressiga (isendid jäävad väiksemaks), kuigi vastseperioodi kestus ei pruugi seejuures pikeneda, vaid just lüheneda (Yang *et al.*, 2015). Madala tiheduse tingimustes väheneb kokkupuutesagedus, mis omakorda vähendab stressi- ja vigastuste riski ning loob paremad võimalused toitainete akumuleerimiseks ja seeläbi suurema kehamassi saavutamiseks (Hanson *et al.*, 2020). Madala asustustihedusega tingimustes kasvanud isenditel olid tõenäoliselt paremad võimalused toitainete kogumiseks ja kehamassi suurendamiseks.

Samuti näitasid tulemused, et vastsetihedusel oli oluline mõju ogakärblase *H. illucens* vastseperioodi ning eelnuku- ja nukuperioodi kestustele (Tabel 1), kus madalamal vastsetihedusel kasvanud isenditel oli igas eluetapis pikem arenguaeg. On näidatud, et suurema stressitaseme juures näiteks toidunappuse või ebakvaliteetse toidu puhul, jäävad isendid kehamõõtmetelt väiksemaks ning arenguaeg pikeneb (Teder *et al.*, 2014). Siiski on paljudes putukaliikide asustustiheduse uuringutes täheldatud lühenenud arenguaega kehamassi vähenemise hinnaga (Murata *et al.*, 2012; Vellau & Tammaru, 2012; Li *et al.*, 2021).

Varasemad ogakärblase uuringud on näidanud standardset stressivastust asustustiheduse mõjudele – halvemas keskkonnas kasvanud isendid on väiksemad ning nende areng pikem (Opare *et al.*, 2022), kuid magistritöö tulemused on vastuolus nende uuringutega. Kõrgel vastsetihedusel kehamassi vähenemine ning arenguaja lühenemine selles uuringus näitab asustustiheduse keerukat mõju ja selle põhjus võib olla kõrge asustustiheduse poolt põhjustatud stressivastuse tugevuses. Juhul kui kõrgest asustustihedusest põhjustatud keskkonnastress on väga tugev, aeglustub ainevahetus sedavõrd, et minimaalse kehakaalu saavutamine venib, sest nukkumisprotsessi saab alustada alles pärast kriitilise massi saavutamist (Santos *et al.*, 1994). Tulemuseks on väike kehamass ja pikk vastseperiood (Teder *et al.*, 2014).

Asustustihedusest tingitud signaal patogeenide või kiskluse ohust võib luua teistsuguse olukorra, kus isendid kiirendavad arengut (Teder *et al.*, 2014). Varasemalt on pakutud, et kõrge asustustihedus võib endast kujutada potentsiaalselt ohtlikku keskkonda, kust tasuks väiksema kehamassi hinnaga kiiremini lahkuda (Vellau & Tammaru 2012). Keskkonnast saadavad signaalid (teiste isendite tajumine, toiduressursi vähenemine ja/või ruumipuudus) võivad viidata potentsiaalselt ohtlikule keskkonnale, kus esineb suurem patogeenide, kannibalismi või suurenenud kiskluse oht ning kasulik oleks sellisest keskkonnast võimalikult kiiresti lahkuda (Applebaum & Heifetz, 1999; Shafiei *et al.*, 2001; Davidowitz *et al.*, 2003; Wilson & Cotter, 2008; Komo & Charabidze, 2021). Samas väga kõrgel asustustihedusel on kohati raske eristada ka toiduressursi mõju (väiksem suurus ja pikem arenguaeg halvema kvaliteediga keskkonnas) asustustiheduse mõjust (Tammaru *et al.*, 2000; Vellau & Tammaru, 2012). Kuna on näidatud, et suurendades toidu valgusisaldust on suudetud ümber pöörata kõrge asustustiheduse negatiivne mõju elukäigutunnustele (Klepsatel *et al.*, 2018). Seetõttu on tõenäoline, et meie katses tekitas kõrge vastsetiheduse pigem mõõdukat stressi (Opare *et al.*, 2023) ja ressursside ammendumist ei tekkinud või ei olnud see piisavalt piirav, et varjutada astustustiheduse kui signaali efekti.

Vabatahtlikult agregeerivatel liikidel võib esineda optimaalseid keskmisi tihedusi, millest alates on keskkonna mõju isenditele erinev. Hariliku äädikakärbse (*Drosophila melanogaster)* puhul on leitud, et liiga suurtes rühmades kasvades põhjustas isenditevaheline konkurents kohasuse languse, samas kui liiga väikesed rühmad ei suutnud toitu efektiivselt tarbida, mis samuti vähendas kohasust (Liao *et al.*, 2024) ehk neil esines optimaalne asustustihedus, mis tagas isenditele paremad keskkonnatingimused. Ka teistel vastsena vabatahtlikult agregeerivatel putukaliikidel on näidatud optimaalse vastsetiheduse esinemist (Deruytter & Coudron, 2022).

H. illucens näol on samuti tegemist vastsena vabatahtlikult koonduva liigiga, kelle puhul on näidatud, et madalamal kasutatud vastsetihedusel on optimaalsed kasvutingimused (Opare *et al.*, 2022). Varasemates töödes on võrreldud vastsetihedusi 1, 5 ja 10 vastset cm² kohta (Opare *et al.*, 2022). Neil tingimustel pikenes nukuperiood üldjoontes koos tiheduse kasvuga: madala asustustiheduse juures oli arenguaeg lühem, kõrge ja keskmise puhul pikem. Isaste puhul leiti, et tiheduse viis vastset/cm² korral oli nukuperiood pikem, kui 10 vastset/cm² korral (Opare *et al.*, 2022). Ehk mõlema kõrge tiheduse töötluse puhul jäi nukuperiood pikemaks, ent 10 vastset cm² andis siiski lühema nukuperioodi kestuse kui viis vastset cm² kohta. Selles töös läbiviidud katses rakendati vahepealseid tihedusi: 1,5 ja 7,5 vastset cm² kohta. Tulemuste erinevuse tõenäoline põhjus on kaheosaline. Esiteks paikneb selles katses kasutatud kõrge vastsetihedus (7,5 vastset cm²) täpselt varasemate 5 ja 10 vahel – tihedusel, kus eelnevate andmete järgi juba ilmnes tendents arenguaja lühenemisele. Teiseks ei olnud selles katses kasutatud „madal“ tihedus enam niivõrd madal, 1,5 vastset cm² on kõrgem kui Opare *et al.* (2022) kasutatud üks vastne cm² kohta. On võimalik, et magistritöös kasutatud kõrge vastsetiheduse töötlus oli just sellisel vahepealsel alal, mis tingis ka lühema arenguaja eelnevate katsetega võrreldes. Kuna *H. illucens* on liik, kelle isendid vastseperioodis vabatahtlikult koonduvad, kuid parimad kasvutingimused esinevad siiski suhteliselt madala asustustiheduse juures (Opare *et al.*, 2022), siis võis madal vastsetihedus põhjustada pikema arenguaja ja suurema massi, kuna tegemist oli optimaalsetele tingimustele lähedase keskkonnaga.

Vastsetiheduse ja nukutiheduse koosmõju tuli marginaalselt mitteoluliseks eelnuku- ja nukuperioodi kestuse puhul ($p = 0,057$). Küll on Jooniselt 2 näha tendents, kus madala vastsetiheduse puhul on hilisem nukutiheduse mõju tugevam kui kõrge vastsetiheduse töötluse puhul. Samuti esines madala vastsetiheduse ja kõrge nukutiheduse töötluse rühmas kõige pikem nukuperioodi kestus (MA 10N). Madala vastsetiheduse rühmas oli kõige lühem

nukuperioodi kestus kõige madalamas nukutiheduse rühmas (MA 1N). Taas ei esinenud kõrge vastsetihedusega töötluses suuri erinevusi erinevate eelnuku- ja nukutiheduse töötluste rühmade vahel, mis viitab sellele, et eelnuku- ja nukutiheduse mõju on tugevam madala vastsetiheduse juures kasvanud isenditele. Eelnuku- ja nukutiheduse mõju pole küll varasemalt laialdaselt uuritud, kuid on leitud, et kirjutiiblase *Ceratitis capitata* nukke kõrge asutustiheduse tingimustes hoiustades väheneb edukalt arenenud ja lennuvõimeliste valmikute osakaal (Andress *et al.*, 2015). Võimalik, et madala vastsetiheduse korral, mis on ogakärblasele optimaalseks kasvutingimuseks, arenesid isendid keskkonnas, kus kontakt teiste isenditega oli vähene. Seetõttu kulges nende hilisem areng madala nukutiheduse tingimustes kiiremini kui nendel isenditel, kelle vastsestaadium möödus küll optimaalse (madala) vastsetiheduse juures, kuid keda hiljem mõjutas ebatavaliselt kõrge nukutihedus. Kuna ogakärblasel *H. illucens* esineb nukkumisränne, mille käigus isendid lahkuvad toiduobjektilt ja eelistavad kaevuda pinnasesse, võib eeldada, et nukkumsfaasis eelistatakse viibida liigikaaslastest eraldatult (Alvarez, 2012; Gligorescu *et al.*, 2019). Üleminek madalalt vastsetiheduselt ootamatult kõrgele nukutihedusele võis osutuda stressoriks ja aeglustada arengut. Seevastu kõrge vastsetiheduse tingimustes kasvanud isendid olid juba varases arengufaasis keskkonnastressiga kokku puutunud, mille tõttu võis ka esineda kõrgem stressitaluvus, mistõttu avaldus nukutiheduse edasine mõju nende arengukiirusele märksa nõrgemalt. Selles katses ei olnud võimalik ühildada valmiku- ja vastseperioodi andmeid, mistõttu ei saanud nukuperioodi analüüsis arvesse võtta isendite sugu. Selle teguri kaasamine võiks edasistes uuringutes aidata saada täpsemaid tulemusi. Samuti ei käsitletud magistritöös temperatuuri ega toidukvaliteedi mõju nukuperioodile, kuigi varasemad uuringud on näidanud, et need tegurid mängivad olulist rolli vastsestaadiumi arengus (Cammack & Tomberlin, 2017; Miranda *et al.*, 2019; Opare *et al.*, 2023). Nende faktorite lisamine edasistes uuringutes oleks kindlasti põhjendatud.

Valmiku elueale tuli statistiliselt oluliseks kolmene koosmõju vastsetiheduse, nukutiheduse ning soo vahel. Madala vastsetihedusega rühmas ilmnes selge erinevus isaste ja emaste valmikuperioodi pikkustes, samas kui kõrge vastsetiheduse korral selliseid soolisi erinevusi ei täheldatud. Isastel avaldus vastupidine reaktsioon sõltuvalt nukutihedusest: madala vastsetiheduse tingimustes oli nende valmikuperiood pikim, kui nad olid nukuperioodil madala või keskmise tihedusega rühmades (1N ja 5N) ning lühim, kui nad olid kõrge nukutihedusega rühmas (10N). Seevastu kõrge vastsetiheduse korral oli isaste valmikute eluiga just kõige pikem kõrge nukutiheduse (10N) ja lühem madala ning keskmise nukutiheduse (1N ja 5N) puhul. Kõige suuremad erinevused ilmnesid nende isendite puhul, kes nukuperioodil paiknesid

10 kaupa purgis. Emastel, kes kasvasid vastseperioodil madala ja nukuperioodil kõrge asustustihedusega tingimustes (MA 10N), oli valmikuperiood keskmiselt lühem kui kõikidel teistel töötlustel (Joonis 3). Võimalik, et vastsestaadiumi optimaalne keskkond (madal asustustihedus) ning hilisem ootamatu stress kõrge nukutiheduse tõttu mõjub emastele tugevamalt (Peters & Barbosa, 1977), nagu täheldatud MA 10N töötluses. Selline kombinatsioon võib põhjustada nende eluea olulise lühenemise võimaliku kompromissina, et energia suunatakse ellujäämisele ja sigimisele kuid mitte pikaealisusele (Yadav & Sharma, 2014).

Keskmiselt esines kõige pikem valmikuiga madala vastsetiheduse ja keskmise ning madala nukutiheduse rühmade isastel. Isaste jaoks võib olla kasulik panustada pikemasse valmikuperioodi juhul, kui nad on arenenud optimaalses keskkonnas (madal vastsetihedus ja madal või mõõdukas nukutihedus). Sellistes tingimustes kogutud energiavarud võimaldavad pikemat eluiga, mis võib suurendada paaritumisedukust, arvestades, et emased arenevad valmikuks kauem kui isased (Teder & Kaasik, 2023), seetõttu pikenenud eluiga võimaldab paljunemist erinevate emastega. Madalal vastsetihedusel kasvanud emaste eluiga jäi selgelt lühemaks võrreldes madalal vastsetihedusel kasvanud isastega. On võimalik, et madala vastsetiheduse tingimustes vähenes emaste valmikute eluiga seetõttu, et nad investeerisid rohkem viljakusse ehk munade tootmisesse (Ellers, 1996; Chapman *et al.*, 1998; Segoli & Rosenheim, 2013). Magistritöös ei käsitletud isendite viljakust, kuid edasistes uuringutes oleks selle kaasamine kindlasti väärtuslik informatsioon.

Valmiku märgmassile esines mõju vastsetiheduse ja nukutiheduse interaktsioonil. Suurima keskmise valmikumassi saavutas rühm, mis oli vastsestaadiumis madalal asustustihedusel ning nukustaadiumis samuti madalaimal nukutihedusel (MA 1N). Kuna varasemad uuringud näitavad, et madal vastsetihedus on optimaalne ogakärblase *H. illucens* kasvuks (Jones & Tomberlin, 2019; Opare *et al.*, 2022), siis tõenäoliselt ei olnud ei liigikaaslaste vaheline agressioon ega toitainete kättesaadavus limiteerivaks teguriks selles töötlusrühmas. Samuti esineb ogakärblasel nukkumisränne (Gligorescu *et al.*, 2019) ning eelistatakse olla liigikaaslastest nukustaadiumis eraldatud (Alvarez, 2012) ja seega ka madalaim nukutiheduse rühm soosis optimaalset arengut. Ka teiste liikide puhul on leitud, et nukkude säilitamine kõrge asustustihedusega tingimustes mõjub elukäigutunnuste negatiivselt (Andress *et al.*, 2015; Elaini *et al.*, 2020). Kokku võiski olla kõige optimaalsemad kasvutingimused massi saavutamiseks just madala vastsetiheduse ja samuti ka madalaima nukutiheduse töötluse

rühmas. Seevastu esines kõigil kõrgel vastsetihedusel kasvanud rühmadel väiksem mass võrreldes madalal vastsetihedusel kasvanutega ning kõrge vastsetiheduse töötluse rühmas ei esinenud erinevusi ka nukutiheduse töötluste vahel. Võib eeldada, et kõrge vastsetiheduse tingimused ei olnud soodsad suurema kehamassi saavutamiseks, mistõttu isendid saavutasid vaid minimaalse kriitilise massi nukkumiseks (Komo & Charabidze, 2021) ning sellele järgnenud nukutiheduse töötlus ei omanud enam olulist mõju. Tõenäoliselt oli vastsestaadiumis kogetud stressirohke või ebasoodne keskkond arengut juba määravalt mõjutanud.

Soo mõju valmikumassile oli oluline, emased isendid olid keskmiselt suurema massiga kui isased. Emastel putukatel on tavapäraselt selge seos kehasuuruse ja viljakuse vahel, kus suuremad emased on suurema viljakusega (Honěk, 1993; Jones & Tomberlin, 2021). Ogakärblase kehasuurus mõjutab samuti otseselt nii viljakust kui ka sigimisedukust (Jones & Tomberlin, 2021; Shrestha *et al.*, 2025). Varasemad uuringud näitavad, et mida raskemad on emased nukustaadiumis, seda viljakamad on nad valmikuna, sama seos esineb emaste valmikute kehamassi ja munatootlikkuse vahel (Jones & Tomberlin, 2021; Shrestha *et al.*, 2025). Samuti on kehamõõtmetelt suuremad isased kõrgema sigimisedukusega (Jones & Tomberlin, 2019).

Nii valmiku märg- kui ka kuivmassile esines statistiliselt oluline vastsetiheduse ja soo interaktsioon. Valmikute mass varieerus sugude lõikes märgatavamalt madala vastsetiheduse tingimustes kui kõrge asustustiheduse korral. Madalal vastsetihedusel olid isased selgelt väiksema massiga kui emased, samas kui kõrgel vastsetihedusel ei esinenud nii suurt erinevust sugupoolte vahel. Varasemad uuringud on kinnitanud asustustiheduse mõju valmikute massile, kus madala asustustiheduse korral on vastsete mass suurem ning seeläbi ka valmikute mass suurem (Opare *et al.*, 2022). Samuti on korduvalt täheldatud sugupooltevahelist erinevust, mille kohaselt on emaste isendite mass suurem kui isastel. Siiski ei ole senistes ogakärblaste töödes tuvastatud statistiliselt olulist interaktsiooni vastsetiheduse ja soo vahel valmiku massile (Opare *et al.*, 2022). Samuti on emased keskmiselt suuremad ning vajavad kasvuks rohkem energiat kui isased ning just nendel põhjustel on emastele erinevad keskkonnastressorid ka tugevama mõjuga (Teder & Kaasik, 2023). Kuna kõrge vastsetiheduse mõju emastele oli oluliselt tugevam, vähenes nende kehamass märkimisväärselt, mistõttu vähenes ka sooline erinevus kehamassis selles töötlusrühmas. Tööstusliku kasvatamise kontekstis on see oluline, kuna suurema kehamassiga emased on üldjuhul viljakamad ja suudavad muneda rohkem mune, suurendades seeläbi järglaste arvu (Jones & Tomberlin, 2021; Shrestha *et al.*, 2025). On teada,

et putukatel võivad suurematest munadest kooruda ka suuremaid järglased (Fox, 1994; García-Barros, 2000), kellel on paremad ellujäämisvõimalused (Fox & Czesak, 2000; Amiri *et al.*, 2020), mistõttu võib emaste kehamassi vähenemine mõjutada ka järgmise põlvkonna kvaliteeti.

Valmikute märgkaalu analüüsis ilmnesid statistiliselt marginaalsed, kuid mitteolulised interaktsioonid: nukutiheduse ja soo koosmõju ning vastsetiheduse, nukutiheduse ja soo kolmene koosmõju. Lisaks täheldati vastsetiheduse ja nukutiheduse vahel marginaalselt mitteolulist koosmõju eelnuku- ja nukuperioodi kestusele. Need tulemused viitavad võimalusele, et nukutihedus võib siiski mõjutada ogakärbse *Hermetia illucens* elukäigutunnuseid ning ka eelnuku- ja/või nukuperioodil võib esineda asustustiheduse tajumist. Siiski avalduvad need mõjud üksnes koosmõjus teiste tegurite, näiteks soo või võimalike keskkonnastressoritega.

On leitud, et ogakärblastel võib stressitingimustes, sealhulgas kõrge asustustiheduse korral, esineda kannibalismi (Nguyen, 2010) ning ka teiste liikide puhul on kirjeldatud eelnukkude ja nukkude kannibaliseerimist (Tschinkel & Willson, 1971). Samuti on täheldatud negatiivset mõju kõrge nukutiheduse korral nii nuku kui valmiku arengule (Tschinkel & Willson, 1971; Andress *et al.*, 2015; Elaini *et al.*, 2020). Seetõttu võib eeldada, et ogakärblase eelnukustaadiumis toimub aktiivne keskkonnataju ning eelistatakse viibida eraldatult, vältimaks ebasoodsat või potentsiaalselt ohtlikku keskkonda passiivsemas staadiumis. Kuigi nukutiheduse mõju võib iseseisvalt olla väike, võib see teiste tegurite koostoimel võimenduda ning tugevamalt avalduda. Praktilisest vaatepunktist on see eriti oluline tööstuslikus putukakasvatuses, kus nukutihedust saab kunstlikult reguleerida (Dowell *et al.*, 2021) ning sobiva tiheduse valimine aitab vähendada arengulist varieeruvust ning parandada toodangu stabiilsust.

Elumus eelnuku- ja nukustaadiumis sõltus peamiselt vastsetihedusest, kus madala vastsetiheduse rühmas oli suremus suurem. Nukutihedus ega tiheduste interaktsioon statistiliselt olulist mõju ei avaldanud. Suurenenud suremus võib viidata asjaolule, et madalal tihedusel ei panusta isendid nii laialdaselt immuunsusesse. Putukate immuunvastuses on keskne roll ensüümil fenooloksüdaas (ingl *phenoloxidase* (PO)), mis käivitab melaniini sünteesi (Opare *et al.*, 2023). Melaniin aitab patogeene kapseldada ja tugevdab kutiikulit, pakkudes nii immunoloogiliost kui ka mehhaanilist kaitset (González-Santoyo & Córdoba-Aguilar, 2012; Opare *et al.*, 2023). Varasemalt on sel ogakärblase liigil näidatud, et kõrgemate vastsetiheduste juures suureneb isendite fenooloksüdaasi aktiivsus (Opare *et al.*, 2023, Opare

et al., 2024b). Võib arvata, et madala vastsetiheduse juures, kus kõrget patogeenide leviku riski indikeerivaid tegureid oli vähem, panustasid isendid ka vähem immuunkaitsesse ning see põhjustas isendite suurema tundlikkuse keskkonnastressorite või patogeenide suhtes. Just madalaima vastsetiheduse ja kõrgeima nukutiheduse töötlusrühmas (MA 10N), registreeriti ka kõige suurem suremus. Kuigi asustustiheduste töötluste koosmõju ei osutunud statistiliselt oluliseks, viitavad tulemused siiski tendentsile, et madalamal vastsetihedusel kasvanud isendid ei talu hiljem nukuperioodis kõrget asustustihedust. Selles katses ei mõõdetud vastseperioodi suremust otseselt, kuid madala asustustiheduse tingimustes võis ka vastsesuremus olla kõrgem, kuna katse teises etapis ei õnnestunud koguda planeeritud hulka eelnukke. Samas viitavad tulemused sellele, et madala vastsetiheduse korral kulus isenditel arenguks rohkem aega, võrreldes kõrge asutustiheduse tingimustega. Seega on võimalik, et väiksem eelnukkude arv madala tiheduse rühmas tulenes pigem aeglasemast arengust kui suuremast suremusest. Siiski ei võimalda kasutatud katsedisain teha lõplikke järeldusi vastsete suremuse kohta vastsestaadiumis.

Putukatel on täheldatud, et stressitingimustes nagu ebakvaliteetse või vähese toiduressursi puhul jäävad isendid kehamõõtmetelt väiksemaks ja arenguaeg pikeneb (Teder *et al.*, 2014), samas on näidatud, et suurem asustustihedus (kui samuti keskkonnastress) võib viia küll väiksema kehakaalu, kuid ka lühenenud arenguajani (Vellau & Tammaru, 2012) . Viimast seost on näidatud paljude äädikakärbse (*Drosophila*), lihakärblase (*Calliphoridae*), vaksiklaste (*Geometridae*) ja kilklaste (*Gryllidae*) vastsetel (Niemelä *et al.*, 2012; Than *et al.*, 2020; Komo & Charabidze, 2021). Kui varem on ogakärblaste uuringud kinnitanud asustustiheduse mõjul arenguaja pikenemist ja massi vähenemist (Barragan-Fonseca *et al.*, 2018; Dzepe *et al.*, 2020; Opare *et al.*, 2022), siis selle magistritöö tulemused näitavad vastupidist trendi: kõrge vastsetiheduse puhul oli areng kiirem ja mass väiksem. Arenguaja kiirenemine mõõduka stressi tingimustes soosib hüpoteesi, et vastsete koondumine võib toimida ka ohusignaalina, tagades küll efektiivsema toitumise, kuid indikeerides ka kiiremat toidu ammendumist ning kannibalismi või patogeenide leviku ohtu (Applebaum & Heifetz, 1999; Shafiei *et al.*, 2001; Davidowitz *et al.*, 2003; Wilson & Cotter, 2008; Than *et al.*, 2020). Samuti näitavad andmed, et eelnuku ja/või nukufaas ei ole passiivne. Eelnuku- ja nukutiheduse mõju ilmnes soospetsiifiliselt koosmõjus vastsetihedusega. See ühtib varasemate uuringutega, kus on näidatud nukutiheduse mõju valmiku kohasususele ning nukuperioodi tundlikkust keskkonnahäiringutele (Tschinkel & Willson, 1971; Andress *et al.*, 2015; Lindstedt *et al.*, 2019; Elaini *et al.*, 2020). Ootuspäraselt olid ka selle katse tulemusel emased isastest

kehamassilt suuremad ning asustustiheduse mõju avaldus emastele tugevamalt, mis on kooskõlas üldise teooriaga, et just emased on keskkonnahäiringutele tundlikumad, sest suurem kehamass on neile otseselt vajalik viljakusse investeerimiseks (Jones & Tomberlin, 2021;Teder & Kaasik, 2023; Shrestha *et al.*, 2025).

Looduslikes tingimustes satuvad madalal vastsetihedusel arenenud isendid harva väga suure nukutiheduse tingimustele, kuid tööstuslikes kasvatustes on see sage: vastseperioodis monitooritakse täpselt asustustihedust ja temperatuuri, ent hiljem esineb nukkude kõrgel tihedusel hoiustamine (Andress *et al.*, 2015; Dowell *et al.*, 2021). Selle uuringu tulemused näitavad, et selline järsk üleminek – eriti madalalt vastsetiheduselt kõrgele nukutihedusele – võib lühendada valmikute eluiga ja potentsiaalselt vähendada viljakust, läbi isendite massi languse ja eluea lühenemise. Samuti näitas Andress *et al.* (2015) kirjutiiblasel *Ceratitis capitata*, et nukkude hoidmine kõrgel asustustihedusel vähendas edukalt koorunud valmikute arvu. Seetõttu oleks ka ogakärblaste kasvatamise seisukohast oluline jälgida nii vastsestaadiumis esinevat asustustihedust kui ka eelnuku- ja nukuperioodil, eriti, kui eelnevalt on vastsed kasvanud madalatel asustustihedustel. Selle katse tulemused näitavad, et parim meetod isendite kasvatamiseks on tagada madal asustustihedus nii vastse- kui ka nukuperioodi ajal, nii saavutatakse suurim eelnuku ja ka valmiku mass ning keskmiselt pikim eluiga. Järjepidev tiheduse jälgimine kõigis arengustaadiumites aitab optimeerida tootlikkust ja säilitada valmikute viljakust.

Magistritöö andis vastused püstitatud uurimisküsimustele. Tulemused kinnitasid, et vastsetihedus kujundab ogakärblase *Hermetia illucens* arengut kogu elutsükli vältel. Ühtlasi ilmnes, et vastsetiheduse mõju elukäigutunnustele erines varasemates uuringutes kirjeldatust, täiustades teadmisi ogakärblase stressivastuse mehhanismidest ning asustustiheduse mitmekesistest mõjudest. Samuti leiti, et eelnuku- ja nukuperiood on tundlik keskkonnamõjutustele ning asustustiheduse mõju sellele perioodile avaldub peamiselt soospetsiifiliselt teiste stressorite, nagu vastsetiheduse koosmõjul. See on uudne avastus, mis vajaks edaspidi ka laialdasemat uurimist. Asustustihedus toimib korraga kui keskkonnastressor ning signaal ohtlikust keskkonnast. Edasised uuringud peaksid käsitlema erinevate stressorite, sealhulgas äärmuslikult kõrge või madala vastse- ja nukutiheduse, aga ka temperatuuri kõikumiste, nälja või toidukvaliteedi languse, koosmõjusid, mis võivad kõik mõjutada ogakärblase arengut. See on eriti oluline tööstusliku kasvatamise seisukohast, kus kõik need mõjud olulist rolli mängivad. Samuti tuleks järgnevates uuringutes keskenduda ka isendite

viljakuse ning järgnevate põlvkondade edukuse uurimisele, kaasates sealhulgas ka immuun- ja hormonaalvastuste analüüse, et mõista paremini stressitaseme mõju neile tunnustele.

5. KOKKUVÕTE

Asustustiheduse mõju putukate elukäigutunnustele on keerukas ja mitmetasandiline, mõjutades isendeid läbi mitmete arengustaadiumite. Ehkki asustustihedusest sõltuva konkurentsi rolli on vastsearengus suhteliselt põhjalikult uuritud, on senistes töödes vähe tähelepanu pööratud eelnuku- ja nukustaadiumile, mille kaudu võivad samuti avalduda olulised keskkonnatingimuste mõjud. Magistritöö eesmärk oli uurida asustustiheduse mõju ogakärblase *Hermetia illucens* arengule, keskendudes nii vastse-, eelnuku- kui ka nukustaadiumile. Eriti pöörati tähelepanu väheuuritud (eel-)nukuperioodile, kus ogakärblane erineb enamikest täismoondega putukatest, säilitades aktiivsuse ka pärast toitumise lõppu eelnukustaadiumis. Magistritöö aitab täita lünka ogakärblaste elutsükli uurimises ning pakub väärtuslikku teavet putukate tööstusliku kasvatamise optimeerimiseks.

Tulemused näitasid, et vastsetihedusel oli määrav mõju kogu elutsükli jooksul: madal asustustihedus pikendas arenguaega ja suurendas isendite massi, samas kui kõrge asustustihedus kiirendas arengut, kuid tõi kaasa väiksema kehamassi. Tulemused on vastuolus eelnevate ogakärblaste uuringute tulemustega, kuid kooskõlas paljude teiste putukaliikide vastusega asustustiheduse mõjule. Asustustihedus tundub olevat korraga nii stressor kui ka signaal potentsiaalselt ohtlikust keskkonnast. Töö tulemused viitavad bioloogilisele kompromissile: isendid, kes tajuvad keskkonda ohtlikuna (nt kõrge tihedusest tingitud suurem konkurents või ressursipuudus), võivad eelistada kiiret arengut väiksema kehasuuruse hinnaga, et ohtlikust keskkonnast võimalikult kiiresti lahkuda.

Nukutihedus üksinda elukäigutunnustele olulist mõju ei avaldanud, kuid mõjus märgatavalt koosmõjus vastsetiheduse ja sooga, eriti valmikute massile ja elueale. Eriti tundlikuks osutusid isendid, kes kasvasid vastsena madala asustustihedusega keskkonnas, kuid hiljem puutusid kokku kõrge nukutihedusega – sellisel juhul vähenes valmiku eluiga, suurenes suremus ning isaste puhul vähenes mass. See tulemus viitab ogakärblase *H. illucens* puhul asustustiheduse tajumisele ja selle mõju tundlikkusele ka eelnuku- ja/või nukuperioodil, kui isendid on eelnevalt olnud optimaalses keskkonnas. Kuna suremus oli kõige suurem madala vastsetiheduse ja kõrge nukutiheduse töötluste kombinatsioonis, siis see võib viidata, et ootamatu asustustiheduse suurenemine võib olla ogakärblasele stressitekitav. Samas võisid madala vastsetihedusega kasvatatud isendid investeerida vähem immuunkaitsesse, mistõttu olid nad stressitaseme muutumisel haavatavamad.

Statistiliselt olulised erinevused ilmnesid ka sugude lõikes: emaste mass oli isaste omast keskmiselt suurem, mis on kooskõlas teadmistega putukate viljakuse ja kehasuuruse seosest. Suurem kehasuurus tagab enamasti emastele putukatele ka kõrgema viljakuse, kuna munade tootmine ja järglaste saamine on energiakulukas protsess, milleks emased vajavad rohkem toitaineid ja ressursse. Oluline leid oli ka valmikute eluiga mõjutav statistiliselt oluline vastsetiheduse, nukutiheduse ja soo kolmene koosmõju, kus kõige pikema valmikuperioodi saavutasid isased ning emaste eluperiood märgatavalt lühenes, mis võib viidata lõivsuhtele eluea ja sigimisedukuse vahel. Isaste eluiga oli pikem kui emastel. Isastel võib olla kasulik elada kauem, et suurendada paaritumisvõimalusi ning jõuda ära oodata reeglina hiljem kooruvaid emaseid. Just madala vastsetiheduse ja kõrge nukutiheduse juures vähenes isaste valmikute eluiga märgatavalt võrreldes keskmise ja madala nukutihedusega kasvanud isastega. See viitab samuti eelnuku- ja/või nukuperioodil keskkonna tajumisele. Emaste eluiga oli madalal vastsetihedusel selgelt lühem kui isastel, mis näitab, et vastsetihedus mõjutas emaseid tugevamalt. Kõrge vastsetiheduse puhul ei esinenud emaste ja isaste elueas suuri erinevusi.

Tulemustest järeldub, et ogakärblase arengut mõjutab vastseperioodi asustustihedus kogu elutsükli vältel. Erinevad asustustihedused mõjutavad massi, arengukiirust ja eluea kestust, seejuures võivad asustustihedusest tingitud stressisignaalid kutsuda esile kiirema arengu väiksema massi arvelt. Madal vastsetihedus osutus isendite kasvuks kõige soodsamaks, kuid sellistel tingimustel kasvatatud isenditel esines suurem suremus kõrge nukutiheduse töötlustes, mis võib viidata vähenenud immuunkaitsele või optimaalsest grupisuurusest erinevale asustustihedusele. Oluline on asjaolu, et ogakärblane H. *illucens* on tundlik mitte ainult vastse- vaid ka eelnuku- ja nukuperioodi vältel ilmnevatele keskkonnamõjudele, mis erineb paljudest teistest putukaliikidest, kelle nukustaadium on suuresti passiivne arenguetapp. Kuigi nukutihedusel eraldiseisvat statistiliselt olulist mõju ei ilmnenud, avaldus mõju koosmõjus vastsetiheduse ja soo teguritega. See viitab vajadusele jätkata selles arengufaasis ilmnevate keskkonnamõjude uurimist ka edaspidi. Töö täitis seatud eesmärgid, tuues välja, et asustustihedus mõjutab ogakärblase arengut kogu elutsükli jooksul, mitte üksnes vastsestaadiumis. Tulemused aitavad paremini mõista ogakärblase bioloogiat ja toetavad selle liigi tööstuslikuks kasvatamiseks vajalike teadmiste avardamist. Edaspidi on põhjendatud uurimine erinevate keskkonnamõjude koosmõjust, keskendudes just eelnuku- ja nukuperioodile, kui seni väheuuritud arengujärkudele. Ogakärblase *H. illucens* kasvatajatel on soovitatav vältida kõrget nukutihedust, eriti juhul, kui vastseid kasvatatakse eelnevalt madala

asustustiheduse juures, kuna nukustaadiumi asustustihedus mõjutab arenguaega, valmiku massi ja eluiga.

6. SUMMARY

The influence of population density on insects' life-history traits is complex and multifaceted, affecting individuals across multiple developmental stages. While the role of density-dependent competition has been relatively well studied during larval development, the pre-pupal and pupal stages have received far less attention, despite the potential for significant environmental effects to emerge during these periods. This Master's thesis explores the impact of population density on the development of the black soldier fly (*Hermetia illucens*), focusing on the larval, pre-pupal, and pupal stages. Particular emphasis was placed on the understudied pre-pupal and pupal period, during which *H. illucens* exhibits a unique characteristic among holometabolous insects – remaining active even after the cessation of feeding differs from most holometabolous insects by remaining active even after the end of feeding during the pre-pupal stage. By addressing this knowledge gap, the thesis contributes to a deeper understanding of *H. illucens*' life cycle and provides valuable insights for optimizing insect mass-rearing practices.

The results indicate that larval density significantly influenced the entire life cycle of *H. illucens*. In particular, low density prolonged development time and increased individual body mass, while high density accelerated development but resulted in lower body mass. These findings partially contradict previous research on *H. illucens* but align with the population density responses observed in many other insect species. Population density appears to act both as a stressor due to resource availability changes and as a signal of a potentially dangerous environment. The results indicate the presence of trade-off: individuals perceiving their environment as dangerous (due to high competition or resource scarcity caused by high density) may prioritize rapid development at the cost of smaller body size in order to escape the dangerous environment as quickly as possible.

Pupal density alone did not significantly affect life-history traits but showed notable interaction effects with larval density and sex, especially on adult body mass and lifespan. Individuals that developed under low larval density but were later exposed to high pupal density were particularly sensitive – this treatment resulted in reduced adult lifespan, increased mortality, and decreased male body mass. This suggests that *H. illucens* is capable of perceiving

population density and remains sensitive to its effects even during the prepupal and/or pupal period, particularly if the earlier environment was optimal. The highest mortality rates during the prepupal and pupal stages occurred under the combination of low larval density and high pupal density, suggesting that a sudden increase in density during late development may act as a stressor for *Hermetia illucens*. Alternatively, individuals reared under low larval density may have invested less in immune defense, making them more vulnerable to changes in stress levels.

Statistically significant sex-based differences were observed, with female body mass averaging higher than that of males. This pattern aligns with the well-established relationship between fecundity and body size in insects. A larger body size ensures higher fertility in female insects, as egg production and offspring generation are energetically costly processes that require more nutrients and resources. Another important finding was statistically significant three-way interaction effects of larval density, pupal density, and sex on adult lifespan. The longest adult lifespan was observed in males, while females showed significantly shorter lifespans, possibly indicating a trade-off between resource allocation to lifespan and reproductive success. Male longevity exceeded the female lifespan. likely due to the advantage of extended lifespan in maximizing mating opportunities in males, as they often need to wait for females to emerge (protandry). Notably, male adult lifespan decreased significantly under the combination of low larval and high prepupal and pupal density, compared to males reared at medium or low prepupal and pupal densities. This again suggests environmental perception during the prepupal- and/or pupal periods. Female lifespan under low larval density was clearly shorter than that of males, indicating a stronger effect of larval density on females. Under high larval density, no major sex differences in lifespan were observed.

Results of the thesis suggest that the larval stage population density influences *H. illucens* development throughout its entire life cycle. Different densities affect body mass, development rate, and lifespan, and density-induced stress signals may trigger accelerated development at the cost of reduced body mass. Low larval density is preferred for growth in *H. illucens*, but higher mortality occurred in low larval density high prepupal/ pupal density combination, possibly due to reduced immune investment or suboptimal group size. It is important to note that *H. illucens* development is sensitive not only during the larval but also the pre-pupal and pupal stages, which differs from many other insect species where the pupal stage tends to be more passive. Although pupal density alone had no statistically significant effect, it had a notable impact in interaction with larval density and sex. This highlights the

need to continue studying environmental effects during this developmental phase. The thesis fulfilled its aims, showing that population density influences *H. illucens* development throughout the entire life cycle, not just during the larval stage. The findings contribute to a deeper understanding of *Hermetia illucens* biology and provide essential insights for advancing the industrial rearing of this species. Future research should focus on the combined effects of different environmental factors, particularly during the prepupal and pupal period, a previously understudied developmental stage. Black soldier fly breeders are advised to avoid high pupal densities, particularly when larvae have been reared under low-density conditions, as pupal density influences development time, adult body mass, and lifespan.

7. TÄNUAVALDUSED

Soovin siiralt tänada oma juhendajaid Toomas Esperki ja Kerli Kuuske, kelle tugi, asjatundlikud nõuanded ja motiveerivad sõnad aitasid mul kogu tööprotsessi vältel hoida fookust ja selget mõtlemist. Eraldi soovin tänada Ants Kaasikut, kelle abita ei oleks andmeanalüüs saanud sellisel kujul teoks. Samuti soovin tänada Toomas Tammaru ja Tiit Tederit väärtuslike juhtnööride ja sisukate kommentaaride eest.

Suur aitäh ka mu sõpradele, kes oskasid õigel hetkel ulatada käe ja viia mind loodusesse, pakkudes nii mõttepausi kui ka uut hingamist. Kõige lõpuks tänan oma pere, kes on mulle alati andnud jõudu ja jonnakust alustatu lõpule viia.

Südamest, hästi suur aitäh!

8. KASUTATUD KIRJANDUS

Viitamine ja kirjanduse loetelu vastab ajakirja Science of the Total Environment nõuetele

Abbott, K. C., & Dwyer, G. (2007). Food limitation and insect outbreaks: Complex dynamics in plant–herbivore models. *Journal of Animal Ecology*, *76*, 1004–1014.

Agnew, P., Hide, M., Sidobre, C., & Michalakis, Y. (2002). A minimalist approach to the effects of density-dependent competition on insect life-history traits. *Ecological Entomology*, *27*, 396–402.

Alvarez, L. (2012). The role of black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.)(*Diptera*: *Stratiomyidae*) in sustainable waste management in Northern Climates.

Amiri, E., Le, K., Melendez, C. V., Strand, M. K., Tarpy, D. R., & Rueppell, O. (2020). Egg-size plasticity in Apis mellifera: Honey bee queens alter egg size in response to both genetic and environmental factors. *Journal of Evolutionary Biology*, *33*, 534–543.

Andress, E., War, M., Shelly, T., & Street, A. (2015). Effect of Pupal Holding Density on Emergence Rate, Flight Ability, and Yield of Sterile Male Mediterranean Fruit Flies (*Diptera*: *Tephritidae*).

Applebaum, S., & Heifetz, Y. (1999). Density-dependent physiological phase in insects. *Annual Review of Entomology*, *44*, 317–341.

Barragan-Fonseca, K. B., Dicke, M., & van Loon, J. J. (2018). Influence of larval density and dietary nutrient concentration on performance, body protein, and fat contents of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *166*, 761–770.

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, *67*, 1–48.

Bodlah, M. A., Iqbal, J., Ashiq, A., Bodlah, I., Jiang, S., Mudassir, M. A., Rasheed, M. T., & Fareen, A. G. E. (2023). Insect behavioral restraint and adaptation strategies under

heat stress: An inclusive review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *22*, 327–350.

Bruno, D., Manas, F., Bonelli, M., Gold, M., Marzari, M., Roma, D., Valoroso, M., Montali, A., Guillaume, J., Rebora, M., & others. (2025). Life cycle, reproduction, and morphofunctional characterisation of the gut, fat body, and haemocytes in the black soldier fly. *Journal of Insects as Food and Feed*, *1*, 1–28.

Cammack, J. A., & Tomberlin, J. K. (2017). The Impact of Diet Protein and Carbohydrate on Select Life-History Traits of The Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (L.) (*Diptera*: *Stratiomyidae*).

Chapman, T., Takahisa, M., Smith, H. K., & Partridge, L. (1998). Interactions of mating, egg production and death rates in females of the Mediterranean fruitfly, *Ceratitis capitata*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *265*, 1879–1894.

Clissold, F. J., & Simpson, S. J. (2015). Temperature, food quality and life history traits of herbivorous insects. *Current Opinion in Insect Science*, *11*, 63–70.

Collie, J., Granela, O., Brown, E. B., & Keene, A. C. (2020). Aggression is induced by resource limitation in the monarch caterpillar. *Iscience*, *23*.

da Silva, G. D. P., & Hesselberg, T. (2020). A review of the use of black soldier fly larvae, *Hermetia illucens* (*Diptera*: *Stratiomyidae*), to compost organic waste in tropical regions. *Neotropical Entomology*, *49*, 151–162.

Davidowitz, G., D'Amico, L. J., & Nijhout, H. F. (2003). Critical weight in the development of insect body size. *Evolution & Development*, *5*, 188–197.

Deruytter, D., & Coudron, C. (2022). The effects of density on the growth, survival and feed conversion of *Tenebrio molitor* larvae. *Journal of Insects as Food and Feed*, *8*, 141–146.

Diclaro II, J. W., & Kaufman, P. E. (2009). Black soldier fly *Hermetia illucens* Linnaeus (*Insecta*: *Diptera*: *Stratiomyidae*): EENY 461/IN830, 6/2009. *Edis*, *2009*(7).

Dowell, R. V., Worley, J., Gomes, P. J., Rendón, P., & Herrero, R. A. (2021). Supply, emergence, and release of sterile insects. In *Sterile Insect Technique* (pp. 441-484). CRC Press.

Dzepe, D., Nana, P., Fotso, A., Tchuinkam, T., & Djouaka, R. (2020). Influence of larval density, substrate moisture content and feedstock ratio on life history traits of black soldier fly larvae. *Journal of Insects as Food and Feed*, *6*, 133–140.

Elaini, R., Asadi, R., Naish, N., Koukidou, M., & Ahmed, M. (2020). Evaluation of rearing parameters of a self-limiting strain of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (*Diptera*: *Tephritidae*). *Insects*, *11*, 663.

Ellers, J. (1996). Fat and eggs: an alternative method to measure the trade-off between survival and reproduction in insect parasitoids. *Netherlands Journal of Zoology*, 46, 227-235.

Fox, C. W. (1994). The influence of egg size on offspring performance in the seed beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Oikos*, 321–325.

Fox, C. W., & Czesak, M. E. (2000). Evolutionary ecology of progeny size in arthropods. *Annual Review of Entomology*, *45*, 341–369.

Fox, J., Friendly, G. G., Graves, S., Heiberger, R., Monette, G., Nilsson, H., Ripley, B., Weisberg, S., Fox, M. J., & Suggests, M. (2007). The car package. *R Foundation for Statistical computing*, *1109*, 1431.

García-Barros, E. (2000). Body size, egg size, and their interspecific relationships with ecological and life history traits in butterflies (*Lepidoptera*: *Papilionoidea*, *Hesperioidea*). *Biological Journal of the Linnean Society*, *70*, 251–284.

Giannetti, D., Schifani, E., Reggiani, R., Mazzoni, E., Reguzzi, M. C., Castracani, C., Spotti, F. A., Giardina, B., Mori, A., & Grasso, D. A. (2022). Do it by yourself: Larval locomotion in the black soldier fly *Hermetia illucens*, with a novel “Self-Harvesting” method to separate prepupae. *Insects*, *13*, 127.

Gligorescu, A., Toft, S., Hauggaard-Nielsen, H., Axelsen, J. A., & Nielsen, S. A. (2019). Development, growth and metabolic rate of *Hermetia illucens* larvae. *Journal of Applied Entomology*, *143*, 875–881.

González-Santoyo, I., & Córdoba-Aguilar, A. (2012). Phenoloxidase: A key component of the insect immune system, Entomologia Experimentalis et Applicata. *Wiley Online Library*.

Hanson, F., Stanwyck, E., & Bohorquez, A. (2020). The effects of population density on the incidence of developmental deformities in chemosensory organs of tobacco hornworm larvae (*Lepidoptera*: *Sphingidae*). *Journal of Insect Science*, *20*, 5.

Hoffmann, L. (2021). Genetic diversity and mating systems in a mass-reared black soldier fly *(Hermetia illucens)* population [PhD Thesis]. Stellenbosch: Stellenbosch University.

Holmes, L., Vanlaerhoven, S., & Tomberlin, J. (2013). Substrate effects on pupation and adult emergence of *Hermetia illucens* (*Diptera*: *Stratiomyidae*). *Environmental Entomology*, *42*, 370–374.

Honěk, A. (1993). Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: A general relationship. *Oikos*, 483–492.

Ireland, S., & Turner, B. (2006). The effects of larval crowding and food type on the size and development of the blowfly, *Calliphora vomitoria*. *Forensic Science International*, *159*, 175–181.

Jones, B. M., & Tomberlin, J. K. (2019). Impact of larval competition on life-history traits of the black soldier fly (*Diptera*: *Stratiomyidae*). *Annals of the Entomological Society of America*, *112*, 505–510.

Jones, B., & Tomberlin, J. (2021). Effects of adult body size on mating success of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.)(*Diptera*: *Stratiomyidae*). *Journal of Insects as Food and Feed*, *7*, 5–20.

Joosten, L., Lecocq, A., Jensen, A. B., Haenen, O., Schmitt, E., & Eilenberg, J. (2020). Review of insect pathogen risks for the black soldier fly (*Hermetia illucens*) and

guidelines for reliable production. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *168*, 432–447.

Kaya, C., Generalovic, T. N., Ståhls, G., Hauser, M., Samayoa, A. C., Nunes-Silva, C. G., Roxburgh, H., Wohlfahrt, J., Ewusie, E. A., Kenis, M., & others. (2021). Global population genetic structure and demographic trajectories of the black soldier fly, *Hermetia illucens*. *BMC biology*, *19*, 94.

Klepsatel, P., Procházka, E., & Gáliková, M. (2018). Crowding of *Drosophila* larvae affects lifespan and other life-history traits via reduced availability of dietary yeast. *Experimental Gerontology*, *110*, 298–308.

Komo, L., & Charabidze, D. (2021). Balance between larval and pupal development time in carrion blowflies. *Journal of Insect Physiology*, *133*, 104292.

Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. (2017). lmerTest package: Tests in linear mixed effects models. *Journal of statistical software*, *82*, 1–26.

Lenth, R. & others. (2022). Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. R package version 1.7. 2.

Li, H., Dai, C., Zhu, Y., & Hu, Y. (2021). Larvae crowding increases development rate, improves disease resistance, and induces expression of antioxidant enzymes and heat shock proteins in *Mythimna separata* (*Lepidoptera*: *Noctuidae*). *Journal of Economic Entomology*, *114*, 1808–1816.

Liao, A., Qian, C., Abdi, S., Yee, P., Cursain, S. M., Condron, N., & Condron, B. (2024). Population parameters of *Drosophila* larval cooperative foraging. *Journal of Comparative Physiology A*, *210*, 843–851.

Lindstedt, C., Murphy, L., & Mappes, J. (2019). Antipredator strategies of pupae: How to avoid predation in an immobile life stage? *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, *374*, 20190069.

Liu, C., Wang, C., & Yao, H. (2019). Comprehensive resource utilization of waste using the black soldier fly (*Hermetia illucens* (L.))(*Diptera*: *Stratiomyidae*). *Animals*, *9*, 349.

Macavei, L. I., Benassi, G., Stoian, V., & Maistrello, L. (2020). Optimization of *Hermetia illucens* (L.) egg laying under different nutrition and light conditions. *PLoS One*, *15*, e0232144.

Mahavidanage, S., Fuciarelli, T. M., Li, X., & Rollo, C. D. (2023). The effects of rearing density on growth, survival, and starvation resistance of the house cricket *Acheta domesticus*. *Journal of Orthoptera Research*, *32*, Article 1.

May, B. (1961). The occurrence in New Zealand and the life-history of the soldier fly *Hermetia illucens* (L.)(*Diptera*: *Stratiomyiidae*).

Miranda, C. D., Cammack, J. A., & Tomberlin, J. K. (2019). Life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.)(*Diptera*: *Stratiomyidae*), reared on three manure types. *Animals*, *9*, 281.

Morales-Ramos, J. A., Tomberlin, J. K., Miranda, C., & Rojas, M. G. (2024). Rearing methods of four insect species intended as feed, food, and food ingredients: A review. *Journal of Economic Entomology*, *117*, 1210–1224.

Murata, M., Dung, D. T., Takano, S., Ichiki, R. T., & Nakamura, S. (2012). Effect of larval density on development of the coconut hispine beetle, *Brontispa longissima* (Gestro)(*Coleoptera*: *Chrysomelidae*). *Psyche: A Journal of Entomology*, *2012*, 981475.

Muurmann, A. T., Eriksen, N. T., Rasmussen, J. A., Limborg, M. T., Tomberlin, J. K., Gilbert, M. T. P., & Bahrndorff, S. (2025). Growth and metabolic performance of house fly and black soldier fly larvae differ across densities and waste-based growth substrates. *Waste Management*, *193*, 529–538.

Nayak, A., & Klüber, P. (2025). The hidden drivers: Unraveling the impact of density, moisture, and scale on *Hermetia illucens* rearing. *PloS one*, *20*, e0317049.

Nguyen, T. (2010). Influence of diet on black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus)(*Diptera*: *Stratiomyidae*) life history traits.

Niemelä, P. T., Vainikka, A., Lahdenperä, S., & Kortet, R. (2012). Nymphal density, behavioral development, and life history in a field cricket. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *66*, 645–652.

Nylin, S., & Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual review of entomology*, *43*, 63–83.

Opare, L., Holm, S., & Esperk, T. (2024a). Interaction effects of substrate fermentation and larval density on black soldier fly life-history traits. *Journal of Insects as Food and Feed*, *10*, 2047–2058.

Opare, L., Meister, H., Holm, S., Kaasik, A., & Esperk, T. (2023). High larval densities and high temperatures lead to a stronger immune response in the black soldier fly. *Journal of Insects as Food and Feed*, *9*, 1177–1186.

Opare, L. O., Holm, S., & Esperk, T. (2022). Temperature-modified density effects in the black soldier fly: Low larval density leads to large size, short development time and high fat content. *Journal of Insects as Food and Feed*, *8*, 783–802.

Opare, L. O., Jensen, A. B., Lecocq, A., Holm, S., & Esperk, T. (2024b). Exposure to entomopathogenic fungus and high larval density induce a strong immune response and life-history costs in black soldier fly, a commercially important insect. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *172*, 710–719.

Parra, J. R. P. (2010). Mass rearing of egg parasitoids for biological control programs. *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*, 267–292.

Pazmiño-Palomino, A., Reyes-Puig, C., & Del Hierro, A. G. (2022). How could climate change influence the distribution of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Linnaeus)(*Diptera*, *Stratiomyidae*)? *Biodiversity Data Journal*, *10*, e90146.

Pesarin, F., & Salmaso, L. (2010). The permutation testing approach: A review. *Statistica*, *70*, 481–509.

Peters, T. M., & Barbosa, P. (1977). Influence of population density on size, fecundity, and developmental rate of insects in culture. *Annual Review of Entomology*, *22*, 431–450.

Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., Team, R. C., & others. (2007). Linear and nonlinear mixed effects models. *R package version*, *3*, 1–89.

Roff, D. A. (2002). Life History Evolution. *Sinauer*.

Rolff, J., Johnston, P. R., & Reynolds, S. (2019). Complete metamorphosis of insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, *374*, 20190063.

Santos, M., Fowler, K., & Partridge, L. (1994). Gene–environment interaction for body size and larval density in *Drosophila melanogaster*: An investigation of effects on development time, thorax length and adult sex ratio. *Heredity*, *72*, 515–521.

Saunders, D. S., Wheeler, I., & Kerr, A. (2013). Survival and reproduction of small blow flies (*Calliphora vicina*; *Diptera*: *Calliphoridae*) produced in severely overcrowded short-day larval cultures. *EJE*, *96*, 19–22.

Segoli, M., & Rosenheim, J. A. (2013). The link between host density and egg production in a parasitoid insect: Comparison between agricultural and natural habitats. *Functional Ecology*, *27*, 1224–1232.

Segoli, M., & Wajnberg, E. (2025). Life History Evolution: Traits, Interactions, and Applications. *John Wiley & Sons.*

Shafiei, M., Moczek, A. P., & Nijhout, H. F. (2001). Food availability controls the onset of metamorphosis in the dung beetle *Onthophagus taurus* (*Coleoptera*: *Scarabaeidae*). *Physiological Entomology*, *26*, 173–180.

Shrestha, K., Junes, P., van den Boer, E., Christianen, I., Jacobse, R., & Schmitt, E. (2025). Correlated response to selection for increased body weight on fecundity in *Hermetia illucens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *173*, 532–544.

Shumo, M., Khamis, F. M., Tanga, C. M., Fiaboe, K. K., Subramanian, S., Ekesi, S., Van Huis, A., & Borgemeister, C. (2019). Influence of temperature on selected life-history traits of black soldier fly (*Hermetia illucens*) reared on two common urban organic waste streams in Kenya. *Animals*, *9*, 79.

Stearns, S. C. (1998). The evolution of life histories. *Oxford university press*.

Tammaru, T., Ruohomäki, K., & Montola, M. (2000). Crowding-induced plasticity in *Epirrita autumnata* (*Lepidoptera*: *Geometridae*): Weak evidence of specific modifications in reaction norms. *Oikos*, *90*, 171–181.

Teder, T., & Kaasik, A. (2023). Early-life food stress hits females harder than males in insects: A meta-analysis of sex differences in environmental sensitivity. *Ecology Letters*, *26*, 1419–1431.

Teder, T., Vellau, H., & Tammaru, T. (2014). Age and size at maturity: A quantitative review of diet-induced reaction norms in insects. *Evolution*, *68*, 3217–3228.

Than, A. T., Ponton, F., & Morimoto, J. (2020). Integrative developmental ecology: A review of density-dependent effects on life-history traits and host-microbe interactions in non-social holometabolous insects. *Evolutionary Ecology*, *34*, 659–680.

Tomberlin, J. K., Adler, P. H., & Myers, H. M. (2009). Development of the black soldier fly (*Diptera*: *Stratiomyidae*) in relation to temperature. *Environmental entomology*, *38*, 930–934.

Tomberlin, J. K., Sheppard, D. C., & Joyce, J. A. (2002). Selected life-history traits of black soldier flies (*Diptera*: *Stratiomyidae*) reared on three artificial diets. *Annals of the Entomological Society of America*, *95*, 379–386.

Tschinkel, W. R., & Willson, C. D. (1971). Inhibition of pupation due to crowding in some tenebrionid beetles. *Journal of Experimental Zoology*, *176*, 137–145.

Tschirner, M., & Simon, A. (2015). Influence of different growing substrates and processing on the nutrient composition of black soldier fly larvae destined for animal feed. *Journal of insects as food and feed*, *1*, 249–259.

Vellau, H., & Tammaru, T. (2012). Larval crowding leads to unusual reaction norms for size and time at maturity in a geometrid moth (*Lepidoptera*: *Geometridae*). *European Journal of Entomology*, *109*, 181.

Vo, V. (2020). Development of insect production automation: Automated processes for the production of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*).

Wang, Y.-S., & Shelomi, M. (2017). Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. *Foods*, *6*, 91.

Weaver, D. K., & mcfarlanes, J. (1990). The effect of larval density on growth and development of *Tenebrio molitor*.

Wilson, K., & Cotter, S. (2008). *Density-Dependent Prophylaxis in Insects*.

Witono, J. R., Setyadi, F. F., Deandra, P. P., Wanta, K. C., Miryanti, A., Santoso, H., Astuti, D. A., & Bulin, C. D. Q. (2024). A Comprehensive Analysis of Chitin Extraction from the Black Soldier Fly for Chitosan Production. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, *68*, 507–522.

Yadav, P., & Sharma, V. K. (2014). Correlated changes in life history traits in response to selection for faster pre-adult development in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, *217*, 580–589.

Yang, F., Hu, G., Shi, J., & Zhai, B. (2015). Effects of larval density and food stress on life-history traits of *Cnaphalocrocis medinalis* (*Lepidoptera*: *Pyralidae*). *Journal of Applied Entomology*, *139*, 370–380.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kadi Tõnurist,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose Asustustiheduse mõjud ogakärblase *Hermetia illucens* elukäigutunnustele, mille juhendajad on Toomas Esperk ja Kerli Kuusk, 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 Commonsi litsentsiga CC BY NC ND 4.0, 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.

Kadi Tõnurist

28.05.2025