

TARTU ÜLIKOO  
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT  
ZOOLOOGIA OSAKOND  
ENTOMOLOOGIA ÕPPETOOL

**Laura Tammiste**

**LIIGIKAASLASTE MÕJU PRUUN-KULDTIIVA (*LYCAENA  
TITYRUS*) MUNEMISKÄITUMISELE**

Magistritöö

30 EAP

**Juhendajad:** Toomas Esperk,  
Triinu Rimmel (Eesti Maaülikool)

Saaremaa 2021



## Liigikaaslaste mõju pruun-kuldtiiva (*Lycaena tityrus*) munemiskäitumisele

Herbivoorsete putukate vastsete edukust mõjutab teiste organismide kohaolu toidutaimel. Nendeks võivad olla teised liigikaaslased, samal toidutaimel arenevad teistest liikidest herbivoorid kui ka röövloomad ja parasitoidid. Liigikaaslaste munadel ja vastsetel võib olla nii positiivne kui ka negatiivne mõju järeltulevale põlvele, mistõttu paljude liikide emasisendid tuvastavad enne munemist liigikaaslaste olemasolu taimel. Samas ei ole siiani täpselt teada, millised tegurid ja millistes oludes põhjustavad liigikaaslaste eelistamise või vältimise ning milliseid signaaltunnuseid kasutab emane putukas liigikaaslaste tuvastamisel. Iseäranis napilt on liigikaaslaste mõju uurivaid teadustöid, mis keskenduksid hoiatusvärvuse ja kultuurtaimi mittekahjustavatele kitsa rööviku toidutaimeringiga liblikaliikidele. Monofaagse, kultuurtaimi mittekahjustava ja vastsestaadiumis varjevärvusega pruun-kuldtiiva (*Lycaena tityrus*) munemiskäitumise uurimiseks viisin läbi munemiseelistus-katsed väikese oblika (*Rumex acetosella*) taimedega. Täpsemalt selgitasin, kas emasliblikad eelistavad või väldivad liigikaaslaste munadega taimi ning kas munemisotsus tehakse visuaalse või keemilise info põhjal. Pruun-kuldtiiva emasliblikad eelistasid muneda liigikaaslaste munadega taimedele, kuid liblikad munesid nendele taimedele vähem mune kui ilma munadeta taimedele. Kõrgemat asustustihedust tajunud emasliblikad olid munemisel aga vähem selektiivsemad. Tõenäoliselt signaliseerivad pruun-kuldtiibade jaoks liigikaaslaste munadega taimi eeskätt keemilised signaalid nn. rohelise lehe lenduvühendite hulga. Magistritöö tulemustest järeldub, et teiste liigikaaslastega koos kasvamisel võib ka varjevärvusega vastsetega liikidel esineda positiivne mõju. Tõenäoliselt arvestab emane liblikas munemisel järglastele mõjuvaid kasusid ja kahjusid ning teeb nende põhjal munemisotsuse, mis suurendab järglaste edukust konkreetsetes keskkonnatingimustes.

Märksõnad: liblikalised, pruun-kuldtiib, sinilibliklased, liigikaaslased, munemiskäitumine, väike oblikas, herbivoor-indutseeritud lenduvühendid, populatsioonitihedus  
CERCS: B250 Entomoloogia, taimede parasitoloogia

## The effects of conspecifics on oviposition behaviour in Sooty Copper (*Lycaena tityrus*)

The performance of herbivorous insect larvae is significantly influenced by the other organisms on the larval foodplant. These organisms could be conspecifics, other species of herbivores feeding on the same plant and also predators and parasitoids. Conspecific eggs and larvae can have either positive or negative impact on the progeny which leads the females to detect the conspecific cues on potential larval food plants before oviposition. The impact of conspecifics on the oviposition behaviour of cryptic and non-pest monophagous Lepidopteran species is not well studied. Here I explored the oviposition preference of a monophagous non-pest butterfly Sooty Copper (*Lycaena tityrus*) with cryptic caterpillars on its larval foodplant Sheepsorrel (*Rumex acetosella*). More specifically, I studied whether the females prefer plants with conspecifics or they are deterred by them during the oviposition site selection. I also investigated whether the oviposition site selection is based on olfactory or visual cues. Results of the study indicate that females of *L. tityrus* preferred to oviposit on plants conspecific eggs presented, but the clutches laid near conspecifics were smaller than on control plants that lacked the eggs. Females who experienced higher adult density showed less selectivity in their oviposition behaviour. The results also suggest that the females detected the plants with conspecifics mainly based on green-leaf volatiles. In conclusion, there is likely to be a positive effect of conspecifics also for species with cryptic larvae. Probably the females consider the benefits and risks caused by conspecifics and during the oviposition site selection they choose the oviposition strategy that increases the performance of their progeny in a particular environment.

Keywords: Lepidoptera, *Lycaena tityrus*, Lycaenidae, conspecifics, ovipositing behaviour, *Rumex acetosella*, herbivore-induced plant volatiles, population density

CERCS: B250 Entomology, plant parasitology

## Sisukord

Sisukord .....	4
1. Sissejuhatus .....	5
2. Liblikate munemiskäitumine ja seda kujundavad tegurid .....	9
2.1. Munemisotsuse kujunemine .....	9
2.2. Mikroklimaatilised tingimused .....	10
2.3. Taimede kaitsereaktsioonid herbivooride vastu .....	11
2.4. Bioloogiliste tegurite mõju munemiseelisele .....	12
2.5. Taimede lenduvühendid .....	16
3. Meetodid .....	19
3.1. Uurimisobjektid .....	19
3.1.1. Pruun-kuldtiib .....	19
3.1.2. Väike oblikas .....	20
3.2. Pruun-kuldtiiva munemiseelistus-katsed .....	21
3.3. Pruun-kuldtiiva röövikute kasvatuskatse .....	23
3.4. Väikese oblika lenduvühendite mõõtmiskatse .....	23
3.5. Andmeanalüüs .....	24
3.6. Töö autori roll .....	25
4. Tulemused .....	26
4.1. Munemiseelistus-katsed .....	26
4.1.1. Munemistaimede valik .....	26
4.1.2. Juurde munetud munad .....	29
4.2. Röövikute kasvatuskatse .....	33
4.3. Lenduvühendite mõõtmiskatse .....	34
5. Arutelu .....	36
6. Kokkuvõte .....	42
7. Summary .....	44
Tänuavaldused .....	46
Kasutatud allikad .....	47

# 1. Sissejuhatus

Paljud loomaliigid on kohastunud valima järglastele arenemiseks võimalikult rohkete ja kvaliteetsete ressurssidega ning ohutu kasvukoha (Refsnider & Janzen, 2010). Nii otsivad ka paljud putukaliigid valmikuna oma vastsetele sobiva arenemispaiga ning munevad munad hoolikalt valitud kohta (Lancaster et al., 2010; Miller et al., 2020). Mida kitsama toidusubstraadi eelistusega on vastne, seda selektiivsem on enamasti ka emane putukas munemiskoha valikul (Gripenberg et al., 2010). Valdavalt kõik liblikalised toituvad vastsestaadiumis taimedest ning emaste munemistaime selektiivsus sõltub eelkõige sellest, kui lai on vastsetele sobivate toidutaimede ring (Gripenberg et al., 2010; Renwick & Chew, 1994; Thompson & Pellmyr, 1991).

Monofaagsete putukate puhul, kes toituvad ühest kindlasti taimeliigist või -perekonnast, on sobiliku elupaiga, toidutaimede ning munemissubstraadi valik väga oluline (Jaenike, 1990). Munemisel on valdavalt selektiivsed ka oligofaagsed putukaliigid, kes toituvad ühte sugukonda kuuluvatest taimeliikidest (Gripenberg et al., 2010; Jaenike, 1990). Polüfaagsete liikide puhul on vastsed võimelised toituma paljudest erinevatest liikidest, mis kuuluvad erinevatesse sugukondadesse ning tihti ei ole selliste liikide valmikud ka kuigi selektiivsed munemistaime osas (Cunningham et al., 2001; Jaenike, 1990). Alati ei pruugi aga kitsama toidutaimede eelistusega liikidel vastsete toidutaimede ja valmikute munemistaime eelistus ühtida (Hufnagel et al., 2017; Soler, Pineda, et al., 2012) ehk liigi käitumine hälbib nn. *preference-performance* hüpoteesist, mis väidab, et emane eelistab munedu taimedele, mis tagavad järglaste kõrgeima võimaliku edukuse (Courtney & Kibota, 1990; Jaenike, 1978; Valladares & Lawton, 1991). Lisaks järglastele toiduks sobiva taimeliigi leidmisele, peavad valmikud arvestama munemisotsuse tegemisel ka muid aspekte, mis võivad tulevase järglaskonna edukust mõjutada (Carrasco et al., 2015).

Munemistaime valik tehakse paljude kriteeriumite alusel. Putukas kasutab selleks keskkonnas leiduvat erinevat tüüpi teavet, mis tuvastatakse sensoorsete organite kaudu (Carrasco et al., 2015; Renwick & Chew, 1994). Keskkonnast kogutud informatsioon edastatakse kesknärvisüsteemi, kus see analüüsitakse ning määratakse putuka käitumine potentsiaalset munemistaime kohates (Fleischer et al., 2018). Sobiva munemistaime otsing kätkeb endas vastsetele sobiva toidutaimede liigi äratundmist, taime välimuse, keemilise koostise ja potentsiaalse munemispaiga mikrokliimatiliste tingimuste hindamist (Finch & Collier, 2000; Renwick & Chew, 1994). Samuti on oluline märgata teiste organismide kohaolu, sest vastsete edukust võivad oluliselt mõjutada nii teised liigikaaslased, samal toidutaimel arenevad

konkurendid kui ka röövloomad ja parasitoidid (Carrasco et al., 2015; Hilker & Fatouros, 2015). Õnnestunud munemistaimede otsing lõpeb taimede aktsepteerimisega, kui emane putukas otsustab taimel muna (Renwick & Chew, 1994; Singer, 2003).

Munemisotsuse kujunemist võivad oluliselt mõjutada taimel olevad liigikaaslaste munad ja röövikud. Liigikaaslaste mõju kohta on saadud erisuunalisi tulemusi – osadel juhtudel liigikaaslaste välditakse, teistes just eelistatakse ja kolmandates selget seost ei ilmne või on tulemused vastuolulised (Tammiste, 2019). Ei ole üheselt veel selgunud, milliste ökoloogiliste tunnustega liikide puhul ning millal kumbki käitumine esineb. On teada, et liigikaaslastega taimi välditakse juhtudel, kui see suurendab vastsete konkurentsi röövikustaadiumis (Mugrabi-Oliveira & Moreira, 1996) või suurendab järglaskonna suremust kannibalismi mõjul (Williams & Gilbert, 1981). Taimi, kus on juba teised liigikaaslased ees, võivad putukad eelistada juhtudel, kui suurem rühm hõlbustab toitumist (Hilker & Fatouros, 2015) või kui lahjendusefekt tagab suurema kaitse looduslike vaenlaste eest (Shiojiri & Takabayashi, 2003). Liigikaaslaste olemasolu võib olla emasele liblikale ka märkuandeks kvaliteetsest elupaigast (Donahue, 2006). Liigikaaslastega taimede eelistamise puhul peavad liigikaaslastest tulevad hüved üle kaaluma liigikaaslaste negatiivsed mõjud (Gripenberg et al., 2010).

Emasisendi poolt tajutav temaga samast liigist isendite asustustihedus on üheks võimalikuks mõjuriks, mis viib liigikaaslaste vältimisele või eelistamisele munemisotsuse kujunemise käigus (Béguinot, 1976; Davis et al., 2011; Mokhtar & Al Nabhani, 2016; Tammaru et al., 1995). Monofaagsete liblikate puhul, kelle vastsed võivad kalduda kannibalismile, on leitud, et välditakse liigikaaslastega munemissubstraati, kuid valikulisus väheneb, kui liigikaaslasteta munemispaikade arv elupaigas langeb (Mokhtar & Al Nabhani, 2016; Mugrabi-Oliveira & Moreira, 1996). Aeg-ajalt hulgisigivate liikide, nagu harilik hallavaksik (*Epirrita autumnata*) ja toominga-võrgendkoi (*Yponomeuta evonymellus*) puhul ei ole liigikaaslaste mõju munemiskäitumisele leitud või on see minimaalne (Javoš et al., 2005; Tammaru et al., 1995). Kultuurtaimi mitte kahjustavate päevaliblikate kohta tehtud eksperimente, mis selgitaksid liigikaaslaste mõju munemiskäitumisele, on võrreldes kahjurliikidega märkimisväärselt vähem (Singer et al., 2017; Williams & Gilbert, 1981).

Varasemates liigikaaslaste mõju munemiskäitumisele uurivates töodes on hinnatud küll mõningate taimede lenduvate ühendite mõju putukate munemiseelistusele, kuid putukate munadega katsetes ei ole eristatud visuaalset signaali keemilisest (Coapio et al., 2016; Leyva et al., 2003; Raitanen et al., 2014; Singer et al., 2017). Seega ei ole teada, kui suurt osa mängib munemisotsuse tegemisele pelgalt muna nägemine või munadest tulenev taimede poolt õhku

paisatud lenduvate ühendite mõju munade olemasolul taimel. Samuti on saadud liigikaaslaste munade mõju kohta erisuunalisi tulemusi eriti just mono- ja oligofaagsete liikide puhul (Tammiste, 2019) ning ei ole ka palju teada selle kohta, kui varieeruv võib olla munemiskäitumine liigisiselt. Aposemaatiliste ehk hoiatusvärvusega liikide puhul on ootuspärane liigikaaslaste eelistamine, kuna suurem hoiatusvärvusega isendite arv ühel taimel võimendab kaitsekohastumuse efektiivsust (Sillen-Tullberg & Leimar, 1988; Stamp, 1980), kuid varjevärvusega ehk krüptiliste liikide kohta, kes munevad munad üksikult või väiksemate gruppidena (Clark & Faeth, 1998) ei ole selget arusaama liigikaaslaste mõjust (Buteler et al., 2009; Clark & Faeth, 1998; Stamp, 1980). Seega ei ole senini selge, millised ökoloogilised mõjurid ja elukäigutunnused võivad põhjustada liigikaaslastega taimede eelistamist ja millised vältimist mitte aposemaatiliste putukate puhul.

Magistritöös valisin katseorganismiks liigikaaslaste mõju uurimiseks monofaagse päevaliblika pruun-kuldtiiva (*Lycaena tityrus*). Selle liigi puhul võib eeldada, et esineb spetsiifiline munemiskäitumine, kuna röövikud toituvad vaid kahel taimeliigil oblika (*Rumex*) perekonnast (Õunap & Tartes, 2014; Tolman & Lewington, 2008) ning seega on tõenäoliselt evolutsiooni käigus tekkinud taimespetsiifilised ning munemisega seotud käitumismustrid ja kohastumused (Gripenberg et al., 2010). Küll aga ei ole kirjanduse põhjal selge, kas pruun-kuldtiib võib pigem eelistada või vältida liigikaaslaseid. Arvestades liigi monofaagsust ning vastete varjevärvust võiks pigem arvata, et liblikad väldivad liigikaaslaseid (Buteler et al., 2009; Clark & Faeth, 1998; Sillen-Tullberg & Leimar, 1988; Stamp, 1980). Samas on leitud vihjeid selle kohta, et pruun-kuldtiivaga samasse perekonda kuuluv suur-kuldtiiva alamliigi *L. dispar batavus* emasliblikad munevad taimedele, kus on juba liigikaaslaste munad ees (Webb & Pullin, 2000).

Pruun-kuldtiiva väikesed kehamõõtmed ning vähene nõudlikkus laboris munema hakkamiseks hõlbustasid laborikatsete läbiviimist. Viimane on eriti oluline, kuna tihti piirabki päevaliblikate kõrge nõudlikkus keskkonnatingimuste suhtes nendega laborikatsete tegemist. Lisaks on oluline viia läbi liigikaaslaste mõju kohta uurimusi liikidega, kelle ökoloogilised iseärasused oleksid erinevad, et kasvatada arusaama liigikaaslaste mõju ökoloogilistest seaduspärasustest. Praegune kirjandus liigikaaslaste mõjust liblikaliste munemiskäitumisele on kallutatud põllumajanduslikult oluliste kahjurliikidele suunas (Buteler et al., 2009; Coapio et al., 2016; Hilker & Fatouros, 2015; Leyva et al., 2003; Molnár et al., 2017; Raitanen et al., 2014; Reisenman et al., 2013; Rojas, 1999; Sato et al., 1999; Shiojiri et al., 2010, 2002; vrd. Singer et al., 2017; Williams & Gilbert, 1981), seepärast on oluline viia võrdluseks läbi

analoogseid uuringuid ka kultuurtaimedel mittetoituvate liikidega. Väike oblikas (*Rumex acetosella*) valiti katsesse munemistaimeks, kuna tegemist on ühe peamise pruun-kuldtiiva röövikute toidutaimena (Õunap & Tartes, 2014; Tolman & Lewington, 2008), millel on samuti väikesed mõõtmised ning mida oli hõlbus katsete läbi viimiseks kasvatada ning katsete jooksul kasutada.

Käesoleva magistr töö eesmärkideks on leida, kas ja millisel viisil mõjutavad liigikaaslaste munad emasisendi munemisotsuse kujunemist pruun-kuldtiiva ja tema vastsete toidutaimena väikese oblika näitel. Magistr töö uurimisküsimused on järgmised:

- (1) Kas pruun-kuldtiiva emasliblikad väldivad liigikaaslaste munadega taimi või eelistavad neid munemisel?
- (2) Kas väikese oblika taimed sünteesivad pruun-kuldtiiva munade mõjul lenduvaid orgaanilisi ühendeid? Arvestades liblikaliigi monofaagsust ning tihedat evolutsioonilist sidet, on kaitsereaktsiooni teke taimel tõenäoline.
- (3) Kas pruun-kuldtiiva emasliblikad tuvastavad liigikaaslaste olemasolu visuaalselt munasid nähes või keemilise info põhjal (munade mõjul sünteesitud lenduvühendid)? Kuna tegemist on päevaliblikaga, kes tegutseb päevavalguses, siis erinevalt näiteks paljudest hämarikuliblikatest ei esine sel liigil visuaalseid piiranguid, mis märgatavalt takistaksid liigikaaslaste munade nägemist. Teisalt on pruun-kuldtiiva munad väikesed ning mitte väga silmatorkava värvusega (kollased) ja nõuaksid liblikalt hästi arenenud visuaalset võimekust. Kui taimed sünteesivad lenduvühendeid, siis need võivad olla potentsiaalsed infoallikad liblikale munemisotsuse tegemisel (Carrasco et al., 2015; Fatouros et al., 2012).
- (4) Kuidas mõjutab munemiseelne valmikute asustustihedus pruun-kuldtiiva munemiskäitumist? Kirjandusele põhinedes võib eeldada, et liblikate valikulisus munemisel langeb kõrgemal populatsioonitihedusel (Davis et al., 2011; Mokhtar & Al Nabhani, 2016; Mugrabi-Oliveira & Moreira, 1996).
- (5) Kuidas mõjutab pesakonna suurus röövikute edukust? Ootuspärane oleks näha röövikute madalamat edukust kõrgemal asustustihedusel, arvestades röövikute monofaagsust ja varjevärvust (Clark & Faeth, 1998; Sillen-Tullberg & Leimar, 1988). Selle katse tulemuste abil saab ka hinnata, kas emase munemistaimena valik ja röövikute kõrgem edukus emasliblika poolt valitud taimel langevad kokku (*preference-performance* hüpotees) (Gripenberg et al., 2010).

## 2. Liblikate munemiskäitumine ja seda kujundavad tegurid

### 2.1. Munemisotsuse kujunemine

Finch'i ja Collieri (2000) teooria järgi koosneb putukate munemisotsuse kujunemine kolmest põhietapist, mille käigus kasutatakse nii visuaalset kui ka olfaktorset ehk lenduvate ühendite kaudu tajutavat teavet. Taimtoidulised putukad kasutavad sobiva munemistaimede valikul esmalt taimedelt neile tuntud lenduvate ühendite (volatiilide) segu (Bruce & Pickett, 2011; Carrasco et al., 2015; Renwick & Chew, 1994), mille põhjal määravad nad vastetele sobiva toidutaimede liigi või perekonna esindaja ning leiavad selle oma elupaigas (Carrasco et al., 2015). Lenduvaid ühendeid ära tundvad retseptorid asuvad putukatel tundlatel ja alalõual (Li & Liberles, 2015). Sageli ei piisa aga pelgalt lenduvühenditest sobiva taime leidmiseks, sest looduslikus koosluses kasvavad taimed läbisegi ning on keeruline hinnata, milline neist taimedest eritab just neid potentsiaalset munemistaimede iseloomustavaid lenduvühendeid. Sestap hinnatakse järgmisena visuaalselt taimede kuju ja värvi (Renwick & Chew, 1994). Viimaks kombib putukas taime lehti, jalgade, tundlate, imilondi ja munetiga, kus tundekarvakestel paiknevate kemoretseptoritega tuvastatakse taime mittelenduvate ühendite keemilise koostis (Isono & Morita, 2010) ja emane putukas otsustab kogutud informatsiooni põhjal, kas muneda taimele või mitte (Renwick & Chew, 1994). Näiteks valib lehevaablane *Nematus oligospilus* munemiseks vaid sellise taime, kus ta tunneb kontaktil taimega lehe kutikulaarkihis ära vastsete toidutaimede omased fenoolglükosiidsed vahaühendid (Fernández et al., 2019). Liblikaliste hulka kuuluv maisikahjur euroopa varreleedik (*Ostrinia nubilalis*) kasutab munemistaimede kindlaks määramisel teatud alifaatseid (ilma benseenituumata) n-alkaane taimelehe epikutikulaarkihis (Udayagiri & Mason, 1997). Varasemalt läbiviidud munemiseelistus-katsetes pole eristatud liigikaaslaste munade visuaalset signaali keemilisest. Varasemates töodes on küll uuritud konkreetsete keemiliste ühendite mõju munemiskäitumisele (De Moraes et al., 2001; Fatouros et al., 2012), kuid vähe on uuritud seda, kui suures osas lähtutakse munemisotsuse tegemisel visuaalsest ja kui palju keemilisest signaalist (Mugrabi-Oliveira & Moreira, 1996; Ulmer et al., 2003; Williams & Gilbert, 1981).

Osadel putukatest võib esineda ka käitumuslikke eripärasid sobiva munemistaimede valiku protsessis. Näiteks kapsakärbes (*Delia radicum*) teeb enne lõplikku taime valikut keskmiselt 4 spiraalset lendu ümber potentsiaalse vastsete toidutaimede ja kaks hüpet taimelt ära ja tagasi taimele enne munema hakkamist (Kostal & Finch, 1994). Kui taim ei osutunud õigeks toidutaimede liigiks või ei sobinud taim muude tunnuste pärast, siis tõuseb putukas uuesti lendu ja maandub pärast lühikest lendu järgmisele taimele, mis võib olla juba sobivam (Finch &

Collier, 2000). Monokultuursetes elupaikades on putukatel lihtsam sobivat taimeliiki leida, sest ei ole teisi taimi, kes füüsiliselt, visuaalselt või olfaktoorselt varjutaksid sobivat vastete toidutaimi ning eksitaksid nii munemiskohta otsivat putukat (Finch & Collier, 2000; Renwick & Chew, 1994). Seega mida liigirikkam on taimekooslus, seda kauem võib kuluda aega ja energiat sobiva munemistaimi leidmiseks (Agrawal et al., 2012; Carrasco et al., 2015).

## 2.2. Mikroklimaatilised tingimused

Sobiva munemistaimi valimisel hindavad putukad ka seda, kas munemispaiaga mikroklimaatilised tingimused on soodsad munade koorumiseks ja vastsete arenguks. Mikrokliimaks loetakse väikeste maastikuüksuste kujundatud kliimat kuni 1 meetri kõrgusel maapinnast, mis oleneb elupaiga pinnamoest ning mida omakorda kujundavad väikesed pinnavormid nagu mättad, lohud, vaod jms (Eesti Entsüklopeedia, 1992). Mikroklimaatilisi tingimusi kujundavateks parameetriteks on niiskus, temperatuur, päikesekiirgus ja tuul. Putukad on kõigisoojased loomad, mistõttu nende aktiivsus sõltub otseselt välistemperatuurist ja seega sobilike tingimuste valimine on väga oluline tagamaks järglaspõlvkonna eduka arengu.

Mikroklimaatiliste tingimuste eelistamine varieerub liigiti ning sõltub lisaks liigispetsiifikale ka munemiskoha füüsikalistest eripäradest ning teistest sama nišiga konkureerivatest liikidest (Willmer, 1982). Näiteks eelistavad suur-mosaiikliblika (*Euphydryas maturna*) emasliblikad munemiseks noori saarepuid (*Fraxinus excelsior*). Munad munevad nad maapinnast 1,5–3 m kõrgusele ning eelistavad selleks puid, mis kasvavad puisniitudel või muul moel valgusküllases puistus, sest nii on tagatud varjuline ning piisavate niiskustingimustega mikroelupaik, aga samas ka piisav soojusvoog päikesekiirguselt (Freese et al., 2006). Vareskaera-aasasilmik (*Coenonympha hero*) peab aga röövikute toiduks kõlbliku taimeliigi morfoloogiat olulisemaks kui kindlat taimeliiki. Emasliblikad eelistavad munemiseks peenete niitjate lehtedega taimi nagu näiteks aruheinad (perek. *Festuca*), mis asuvad kõrgemate põõsaste läheduses, sest nii on munad ja röövikud küll hästi valgusele eksponeeritud, kuid samas tagab kõrgem taimestik varju andes piisavad niiskustingimused (Tiitsaar et al., 2016). Sobivad mikroklimaatilised tingimused saab tagada ka sellega, kui munad munevad suurte munakurnadena, sest suuremates munakurnades kannatavad munad vähem kuivamisohu all kui üksikult munevad munad (Clark & Faeth, 1998). Sobivate mikroklimaatiliste tingimuste tagamine võib olla seega ka üheks põhjuseks, miks liblikad võivad eelistada suurematesse kurnadesse ja liigikaaslastega taimedele munemist (Clark & Faeth, 1998; Lawrence, 1990; Sillen-Tullberg & Leimar, 1988).

### 2.3. Taime kaitsereaktsioonid herbivooride vastu

Herbivoorid on oma olemuselt taimede parasiidid ning seetõttu on taimedel arenenud evolutsiooni käigus mitmeid strateegiaid, kuidas vältida taimtoiduliste organismide rünnakuid (Schuman & Baldwin, 2016; J. Wu & Baldwin, 2010). Lisaks füüsikalistele ja morfoloogilistele tunnustele, mis pärsivad herbivooride rünnakuid (nt astlad, kõvad ja paksud lehed, karvad) sisaldavad taimed liigiomaseid keemilisi ühendeid, mis võivad paljudele putukatele olla ebameeldiva maitsega või mürgised (Chen, 2008; Erb & Reymond, 2019; Schuman & Baldwin, 2016). Evolutsiooni käigus on mõnedel putukatel arenenud võime taimekudedes olevat mürki kehaomaseks muundada ehk sekvesteerida ning andnud võimaluse taimest toituda vaatamata taime kaitsereaktsioonile (Erb & Reymond, 2019). Sellest tuleneb, et mõned putukad sealhulgas ka paljud liblikalised on spetsialiseerunud ühele või mõnele taimerühmale, mille omaste keemiliste ühenditega on röövikud evolutsioonilise võidujooksu käigus arenenud metaboolselt toime tulema. Näiteks on põualibliklaste röövikud kohastunud toime tulema sinepiõlidega, mida toodavad ristõieliste (*Brassicaceae*) sugukonda kuuluvad taimed ning needsamad ühendid mõjuvad valmikutele ka atraktantidena munemiskoha valikul (Wheat et al., 2007). Tihti ongi mõnda kindlat taime keemilist ühendit ära tundvad retseptorid omased mõnele kindlale sugukonnale või muu tasemega taksonile putukate seast (Fleischer et al., 2018).

Lisaks eelnevale võivad herbivoorid munade taimetele munemisel või röövikute tekitatud söömiskahjustusega esile kutsuda nii mittelenduvate kui ka kergesti lenduvate keemiliste ühendite tootmise. Nende ühendite funktsioon on hoida eemale taimekahjureid ning samas ka hoiatada läheduses kasvavaid liigikaaslaseid võimaliku herbivooria eest (Carrasco et al., 2015; De Moraes et al., 2001; J. Wu & Baldwin, 2010). Lenduvad ühendid võivad ligi meelitada ka röövloomi ja/või röövparasiite ehk parasitoide, andes neile teada, kus asuvad nende potentsiaalsed saakloomad ning samas aidates nii taimel ka efektiivselt kahjuritest vabaneda (Kessler & Baldwin, 2001; Mrazova et al., 2019; Reisenman et al., 2013). Samas võivad sellised herbivoori indutseeritud lenduvühendid olla positiivseks signaaliks ka munemiskohta otsivale herbivoorile (Sokame et al., 2019). Veel on aga ebaselge, kui efektiivne on selline herbivooride vaenlaste ligi kutsumine taimede poolt looduses ja mis on selle mõju suurus koosluste ökoloogias (Hilker & Fatouros, 2015).

Putuka munajuhast pärinev sekretsioon, mis jääb muna ümber ka pärast muna munemist, kaitseb muna välismõjude eest ning aitab seda ka taimetele kinnitada (Hilker & Fatouros, 2015). Volatiilse kaitsereaktsiooni indutseerivadki esiteks putuka muna ümbritsevas sekretsioonis leiduvad ühendid, mille koostis võib olla liigispetsiifiline ning kui taimel on

evolutsiooni jooksul kujunenud võime neid ühendeid ära tunda, siis võib see kutsuda esile reaktsiooni herbivoori vastu (Wu & Baldwin, 2010). Lisaks lenduvühendite sünteesimisele võib herbivoori munade mõjul teiseneda ka taimelehe epikutikulaarsete vahade omavaheline vahekord, muutuda lehekudede füsioloogia või tekkida muna ümber nekrootiline kude, mis kõik võib pärssida edasist muna arengut või koorunud vastete elumust (Griese et al., 2020; Hilker & Fatouros, 2015; Shapiro & DeVay, 1987). Veel võib taim rakkude suunatud kasvuga pressida herbivoori munad puruks või kasvatada munade alla uue koe (neoplasm), mis irdub koos munaga (Desurmont & Weston, 2011).

Lisaks munade indutseeritud taime kaitsereaktsioonile reageerivad röövikute süljes olevad ühendid herbivoori indutseeritud lenduvühenditega, mida taim toodab kahjustuse tekkimisel, ning nii muutub nende isomeeria Z-isomeeridest E-isomeerideks (Allmann & Baldwin, 2010). Sellist isomeeria muutust on võimelised nii herbivoori liigikaaslased kui ka nende looduslikud vaenlased ära tundma ja nii tegema kindlaks vastsetega taimede kohalolu (Allmann et al., 2013; Rojas, 1999; Sato et al., 1999). On leitud, et putuka vastsete sooles elavad sümbiontsed mikroorganismid võivad olla oluliseks lüliks taimede kaitsereaktsioonina toodetud sekundaarsete ühendite metabolismis putuka sooles, kuid teatakse veel vähe seda, milliste ühendite sekvesteerimisega on seotud just sümbiondid ja millistega mitte (Hammer & Bowers, 2015; van den Bosch & Welte, 2017).

#### **2.4. Biotiliste tegurite mõju munemiseelistusele**

Lisaks otseselt taimest olenevatele teguritele, mõjutavad liblikat munemisotsuse tegemisel ka erinevad biotilised mõjurid. Nendeks mõjutajateks võivad olla liigikaaslastest või teistest liikidest konkurendid, kes kasutavad toidutaimena sama taimeisendit (nt. Shiojiri et al., 2002). Samas võivad oluliselt munemiskäitumist mõjutada ka laia toiduspektriga röövloomad (nt sipelgad, putuktoidulised linnud) kui ka parasitoidid (nt. juuluklased perekonnast *Cotesia*) (Bruce et al., 2010; Buchanan et al., 2017; Lima, 1998). Emased liblikad suudavad teha vahet taimedel, kus asuvad kas liigikaaslaste või teiste liikide munad (Raitanen et al., 2014; Singer et al., 2017) ning tuvastavad ka taimedel olevaid röövikuid ja nende tegevusjälgi (Molnár et al., 2017; Reisenman et al., 2013; Reyes-Prado et al., 2020). Samuti on leitud mõne liblikaliigi puhul, et nad on võimelised taime lenduvühendite kaudu eristama mehhaanilisi kahjustusi röövikukahjustusest lenduvühendite isomeetria muutumise teel (Allmann et al., 2013; Allmann & Baldwin, 2010; Rojas, 1999; Sato et al., 1999). Millisel määral suudab taim eristada erinevate herbivoori liike ning milliste molekulaarsete mehhanismide kaudu see juhitud on, vajab edasist uurimist (Hilker & Fatouros, 2015). Sõltuvalt

taimtoidulise putuka toitumistüübist ning talle sobivate toidutaimeliikide ringist võib ka mükoriisa olemasolu taimel mõjutada putuka edukust kasvukiiruse, kehakaalu, viljakuse ja ellujäämuse kaudu (Koricheva et al., 2009). On teada, et laia toidutaimede ringiga haukamissuistega putukate puhul on mükoriisa mõju pigem negatiivne, samas kui kitsama toidutaimeringiga haukamissuistega putukate puhul ning taimemahlasid imevate liikide puhul on mükoriisil pigem soodustav mõju, kuid milliste mehhanismide kaudu mükoriisa täpsemalt putukatele mõju avaldab pole veel paljuski teada (Koricheva et al., 2009).

Munemiskohta otsivaid emaseid liblikaid mõjutavad tihti oluliselt taimel olevad liigikaaslaste munad ja neist kooruvad röövikud (Carrasco et al., 2015; Hilker & Fatouros, 2015), kuid ei ole üheselt teada, millistel juhtudel eelistatakse liigikaaslaste kohalolu ning millistel mitte. Liigikaaslaste mõju näib olenevat paljudest ökoloogilistest faktoritest, millest lähemalt olen kirjutanud oma bakalaureusetöös (Tammiste, 2019). Liigikaaslaste munadega taimi välditakse, et hoida ära järglaskonna vahelist suuremat konkurentsi toidusubstraadi ja ruumi osas ning ka kannibalismi ohu vältimiseks vastsestaadiumis (Mugrabi-Oliveira & Moreira, 1996; Williams & Gilbert, 1981). Samuti võib munade mõjul indutseeritud taime kaitsereaktsioon alandada toidutaimede kvaliteeti röövikutele kõrgema kaitseühendite kontsentratsiooni näol ning samas võib suurem pesakond äratada rohkem ka röövloomade ja parasitoidide tähelepanu (Hilker & Fatouros, 2015).

Positiivne liigikaaslaste mõju võib avalduda mitmes eri aspektis. Esiteks võib see ilmnedada Allee efekti näol, kus kõrgemal asustustihedusel võib olla paljunemist ja toitumist hõlbustav mõju või efektiivsem kaitse looduslike vaenlaste vastu (Stephens et al., 1999). Selliste liikide puhul võib pärssida madalamal asustustihedusel paljunemist näiteks see, et isendid ei pruugi leida õigel ajal teise sugupoole esindajat või kui on toitumiseks või muuks elutegevuseks vaja mingit laadi sotsiaalset stimulatsiooni. Oma bakalaureusetöös leidsin, et polüfaagsed liblikaliigid eelistavad muneda pigem ilma liigikaaslasteta taimedele, samas kui mono- ja oligofaagsete liblikaliikide puhul on aga liigikaaslastega seotud munemiskäitumine varieeruvam (Tammiste, 2019).

Teiseks võib suuremasse munakurna munemine parandada ka mikroklimaatilisi tingimusi, kuna sealsed munad on vähem ohustatud kuivamise eest kui üksikult munetud munad (Clark & Faeth, 1998). Samuti on leitud, et suurema arvu munade munemine ning vastete paljukesi koos kasvamine on rohkem levinud hoiatusvärvusega ehk aposemaatilistel liikidel (Sillen-Tullberg & Leimar, 1988; Stamp, 1980). On leitud, et agregeerumine võib tõsta järglaste elumust, arengukiirust ning vähendada röövluse ja parasitismi riski lahjenduseefekti abil (Clark

& Faeth, 1998; Lawrence, 1990). Suurem pesakond tekitab lahjendusefekti, kus ühel indiviidil on väiksem tõenäosus röövlooma või parasitoidi saagiks langeda. Näiteks munevad paljud parasitoidid ühe muna- või röövikukogumi kohta või ühele taimele vaid väikese arvu mune ning seega on suuremates kogumikes parasitoidiga nakatumise risk väiksem (Shiojiri & Takabayashi, 2003). Röövikute grupiti koos kasvamine ja hoiatusvärvus võivad hoida eemale üksi elavad selgrootud röövloomad ja linnud, kuid see ei ole nii efektiivne näiteks kaitseks sipelgate eest (Clark & Faeth, 1997). Kurnadena munevad ja vastseeas pesakondadena koos kasvavad liigid munevad seega sagedamini liigikaaslaste juurde, kuna see võib suurendada grupis olemise positiivset mõju (Jayanthi et al., 2020; Ulmer et al., 2003). Vastseeas varjevärvusega liikidel tundub olema liigikaaslaste eelistamine harvem nähtus (Buteler et al., 2009; Clark & Faeth, 1998), kuid varjevärvusega liikidel on ka agregeerumise mõju ja põhjuseid vähem uuritud (Sokame et al., 2019; Webb & Pullin, 2000).

Kolmandaks võib suuremas grupis toitumine hõlbustada üksteisel taime füüsilise ja keemilise kaitsereaktsiooniga toime tulla (Bertea et al., 2020; Hilker & Fatouros, 2015). Koos toitumine hõlbustab näiteks taime kõvadesse lehtedesse aukude tekitamist (Clark & Faeth, 1997). Toitumise hõlbustamine võib esineda ka siis, kui samal taimel toituvad sama liigi eri arengujärgus vastsed (Campbell & Stastny, 2015; Jayanthi et al., 2020) või kui taimel on piisavalt suur hulk vastseid, et taime keemilise vastureaktsiooniga üheskoos toime tulla. See võib aga põhjustada taime kaitsevõime languse, kuna taim on võimeline kaitsereaktsiooni intensiivsemaks tegema vaid teatud kahjustuste tasemeni (Fordyce, 2003). Lisaks on leitud, et rühmas toitumise positiivsed mõjud võivad olla ka liikidevahelised. Näiteks lehetäi liigiga *Brevicoryne brassicae* nakatunud kapsataimedel kasvavad suur-kapsaliblika röövikud kiiremini ja suuremaks kui mittenakatunud taimedel, mille põhjuseks võib olla madalam jasmoonhappe kontsentratsioon lehetäidega nakatunud taimedes (Soler, Badenes-Pérez, et al., 2012). Jasmoonhape, metüül-jasmonaat ja teised sama sünteesirajaga seotud ühendid on taimede signaalmolekulid, mis aktiveerivad taime kaitseühenditega seotud geenide ekspressiooni ning mille abil taim indutseerib kaitsereaktsiooni vastusena haukamissuistega herbivoori rünnakule (Reymond & Farmer, 1998). Mikroorganismide ja koevedelikke imevate putukate, sealhulgas lehetäide mõjul, aktiveerub aga salitsüülhappe sünteesirada, mis on jasmoonhappe rajaga antagonistlik ehk üksteist pärssiva mõjuga ning seega on lehetäidega taimel madalam jasmoonhappe kontsentratsioon (Erb & Reymond, 2019; Reymond & Farmer, 1998). Siiani ei ole aga selget arusaama sellest, milliseid mehhanisme on putukatel veel olemas taime kaitsereaktsioonidega molekulaarsel tasemel toime tulekuks (Erb & Reymond, 2019; Hilker &

Fatouros, 2015). Üheks mõjuriks võivad olla ka vastsete sooles elavad sümbiontsed bakterid, kes aitavad taimede toksilisi ühendeid kehaomaseks muuta (van den Bosch & Welte, 2017). Bakterite rolli olulisusest putukate seedesüsteemis teatakse veel võrdlemisi vähe, aga seniste teadmiste kohaselt võib see roll erinevatel liikidel ja erinevates putukarühmades olla väga varieeruv (Bertea et al., 2020; Hammer et al., 2017; Hammer & Bowers, 2015; van den Bosch & Welte, 2017).

Neljandaks võivad emased putukad eelistada munemistaimena vastsetele sobivate taimeliikide või taimeisendite seast selliseid, millel on väiksem füsioloogiline vastureaktsioon munetud munadele või kus on väiksem tõenäosus röövloomade saagiks langeda või parasitoididega nakatuda (Bertea et al., 2020). Kui vastsed on võimelised toituma mitmest eri taimeliigist, siis võivad röövloomade kohaolul osutada eelistatuks taimed, mis ei tooda lenduvühenditest signaalmolekule. Nii on näiteks leitud punaka-männivaablase (*Neodiprion sertifer*) puhul, et emased eelistasid muneda vastsete jaoks madalakvaliteedilistele taimedele, kus vastsete risk röövloomade saagiks langeda oli madalam, kui vastsete jaoks kvaliteetsemate, kuid kõrgema röövlusriskiga taimedele (Björkman et al., 1997). Näiteks kui looduslike vaenlasi ligi kutsuvate lenduvühendite kogus on seda suurem, mida rohkem on taimel herbivoore, siis leiavad selle taime tõenäolisemalt üles ka röövloomad ja -parasiidid (Shiojiri et al., 2010). Samas juhtudel, kui lenduvühendite kogus ei sõltu taimel olevate herbivooride arvust, siis ei ole vahet, kui suures kurnas herbivoorid on, sest sünteesitav lenduvühendite kogus võib jääda samaks (Shiojiri et al., 2010). Shiojiri et al. (2010) arutlevad, et esimesel juhul oleks emasel putukal mõistlik vältida liigikaaslastega taimi, samas kui teisel juhul aitaks lahjendusefekt jaotada röövlusriski, sest mida suuremas kurnas on muna või vastne, seda väiksem on tõenäosus, et just tema langeb mõne loodusliku vaenlase ohvriks. Kuigi liigikaaslaste võimalikku mõju ning teemaga seonduvate taime kaitseühendite kohta on avaldatud arvukalt uurimusi, on veel vähe töid liblikaliste kohta, mis oleks uurinud liblikaliikide vastureaktsiooni taime kaitsereaktsioonidele või uurinud konkreetseid mehhanisme, mis kaitsevad taimele munetud munasid või röövikuid (Bertea et al., 2020).

Kokkuvõttes saab öelda, et emase putuka munemisotsus oleneb tihti sellest, milline valik on parasjagu konkreetses elupaigas antud keskkonnatingimustel kõige kohasem ehk sellest kas järglaskonda mõjutavad positiivsed aspektid kaaluvad negatiivsed mõjud üles (Carrasco et al., 2015; Gripenberg et al., 2010). Munemiseelistus on plastiline tunnus, mis aitab kohaneda muutuvate tingimustega elupaigas, milleks võib olla näiteks toiduresursi vähesus rööviku- või valmikueas või ka populatsioonitiheduse muutus. Väike-kapsaliblika (*Pieris*

*rapae*) puhul on leitud, et toitainete puudusest põhjustatud stress valmikueas vähendab munemistaimede kvaliteedi selektiivsust ning emasliblikad, kes olid kogenud nälga, munesid rohkem taimedele, kus olid liigikaaslaste munad, samas kui tavapäraselt toitunud liblikad vältisid liigikaaslastega taimi (Jaumann & Snell-Rood, 2019). Suurem populatsioonitihedus annab valmikutele märku võimaliku konkurentsi suurenemisest toiduresursi osas ning nende valikulisus munemistaimede valimisel võib samuti väheneda (Mokhtar & Al Nabhani, 2016; Mugrabi-Oliveira & Moreira, 1996). Näiteks valmikutena grupis hoitud kirikärbsed *Rhagoletis juglandis* olid vähem selektiivsemad munemissubstraadi osas kui üksi olnud isendid (Davis et al., 2011). Väiksem selektiivsus võib tuleneda sobiva arenguja ning toiduresursside piiratud olemisest, mis viib järglaste vahelise kõrgema konkurentsi (Mokhtar & Al Nabhani, 2016). Ka õppimisvõime on üheks plastilisuse näiteks (Carrasco et al., 2015). Polüfaagsete liblikate puhul, kelle röövikud peavad arengu läbimiseks vahetama toidutaimi, võivad valmikud röövikueas kogetu põhjal eelistada munemiseks taimi, mida esineb elupaigas arvukalt ning kus järglased arenevad kõige edukamalt (Cunningham et al., 2001). Samas on kognitiivne võimekus tihti lõivsuhtes mõne muu tunnusega, kuna energiat kasutatakse siis keeruka närvisüsteemi funktsioneerivana hoidmiseks mitte näiteks kasvuks või panuseks järglastesse (Carrasco et al., 2015). Nii näiteks on väike-kapsaliblika puhul leitud, et mida rohkem aega kulutab emane munemistaimede valikule, seda vähem viljakam ta võrreldes vähem selektiivsemate liigikaaslastega on (Jaumann & Snell-Rood, 2016). Võimalik, et liigikaaslastel on veel negatiivseid või positiivseid mõjusid järglaskonnale (nt. sümbiontsete bakterite mõju), kuid nende tuvastamiseks on oluline läbi viia täiendavaid munemiskäitumise uuringuid.

## **2.5. Taimede lenduvühendid**

Taimed on sessiilsed organismid, kes ei saa häiringu tekkimisel liikuda selle eest ära või minna kohta, kus on paremad kasvutingimused. Nad on seetõttu kohastunud tõrjuma enda ümbert kahjureid ning meelitama ligi neile kasulikke putukaid või muutma muudmoodi end ümbritsevat kasvukeskkonda (Baldwin, 2010; Schuman & Baldwin, 2016). Üheks selliseks kohastumuseks on sekundaarsete metaboliitide tootmine, kuhu hulka kuuluvad ka orgaanilised lenduvad ühendid, mille kaudu taim vahetab infot ümbritseva biotilise keskkonnaga (Baldwin, 2010; Chen, 2008; Hilker & Fatouros, 2015; Schuman & Baldwin, 2016; Wu et al., 2017). Herbivoori kohalolu määramiseks on lenduvühendite sünteesi signaalrajad reguleeritud transkriptsioonifaktoritega, mis on peamiselt juhitud läbi oksülipiini-nimelise signaalraja (Baldwin, 2010). Mida spetsiifilisemalt suudab taim teada anda ründava kahjurliigi asukohast, arengustaadiumist ning tegevusest, seda paremini suudavad ka herbivoori looduslikud

vaenlased ta üles leida (Dicke & Baldwin, 2010; Kessler & Baldwin, 2001; Mrazova et al., 2019). Seega võivad sünteesitavad lenduvühendid olla spetsiifilised teatud herbivoori liigile või mõnele tema arengustaadiumile ning seda on õppinud evolutsiooni käigus herbivooridest toituvad liigid ära tundma (Hilker & Fatouros, 2015; Reisenman et al., 2013; Shiojiri et al., 2010).

Kui taim on kahjustada saanud, siis reageerivad taimed sellele kiiresti ja hakkavad tootma ühendeid, mis koosnevad kergesti lenduvatest alkoholidest, aldehyüdideist ning estritest, mille kõikide molekulides on kuus süsinikku (i.k. *green leaf volatiles*) (Scala et al., 2013). Need lenduvühendid on derivaadid C<sub>18</sub> rasvhapetest, millega lehe katki minemisel reageerib ensüüm lipoksügenaas (Baldwin, 2010). Seepärast nimetatakse neid lenduvühendeid ka lipoksügenaasi raja ehk LOX-raja produktideks. Selliseid lenduvühendeid kasutavad taimed taimeosade vaheliseks suhtluseks ning samuti on need produktid kõrval kasvavatele taimedele signaaliks naabertaimede tervislikust seisundist ning võimalikust saabuvast herbivooride rünnakust (Baldwin, 2010; Scala et al., 2013). Need lenduvühendid on ka olulisteks ühenditeks, millega taim reageerib herbivoori kahjustusele, proovides järgmisi herbivoore eemale tõrjuda herbivooride looduslikke vaenlasi ligi kutsudes (Allmann et al., 2013). LOX-raja produktideks on näiteks heksaan, heksanaal, 1-heksanool ja pentaan (Baldwin, 2010). Terved kahjustusteta taimed eritavad LOX-raja ühendeid väga väikestes kogustes võrreldes kahjustatud taimedega (Scala et al., 2013).

Lenduvad pikaahelalised aldehyüdid on seitsme või enama süsinikuga lenduvühendid, mis võivad pärineda mitmest erinevast sünteesirajast. Nende hulka kuuluvad näiteks heptanaal ja nonanaal, Nende ühendite kontsentratsioon võib lisaks muudele stressoritele tõusta ka putukherbivoori kahjustuste mõjul (Wildt et al., 2003). Pikaahelalised aldehyüdid on ka putukate feromoonide koostises (nt nonanaal, dekanaal) ning seetõttu on putukatel olemas ka pikaahelalisi aldehyüde detekteerivad retseptorid (Kwadha et al., 2019). On võimalik, et taimede sünteesitud pikaahelalised aldehyüdid võivad mõjutada ka putukate munemisvalikuid (Pophof et al., 2005).

Isopreen (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) on viie süsinikuga lenduv alkeen, mida umbes 20% taimeliikidest suudavad sünteesida (Loivamäki et al., 2008). Isopreeni tootmine on kulukas, kuna tema süntees konkureerib teiste terpenoididega substraadi dimetüülallüül-pürofosfaadi (DMAPP) pärast (Baldwin, 2010). Seepärast herbivoori rünnaku korral tihti isopreeni tootmine langeb, kuna isopreen ja terpeenid jagavad substraati (Copolovici et al., 2017). Taimed toodavad isopreeni stressiolukordades kõrgematel temperatuuridel, kuna ta kaitseb taimi liigse kuumuse

ja oksüdatiivse stressi eest ning aitab toime tulla taimelehtede temperatuuri kõikumistega (Baldwin, 2010; Fini et al., 2017). Samuti on leitud, et isopreeni tootvad taimed võivad tõrjuda röövikuid eemale, mistõttu võib ühend toimida ka kaitsena herbivoorikahjustuste vastu, kuid selle mõju looduslikes tingimustes pole veel uuritud (Laothawornkitkul et al., 2008).

Teatud herbivoorivastase kaitsefunktsiooniga lenduvühendeid hoiustab taim ka näärmetes, kust need häiringu mõjul vallanduvad (Cheng et al., 2007) ning mille kontsentratsioon tõuseb järsult vahetult peale herbivoori rünnakut (Baldwin, 2010). Selliselt hoiustatud lenduvühenditeks on peamiselt terpeenid, mille lülideks on isopreeni molekulid ning mis võivad olla eri funktsionaalrühmadega modifitseeritud. Terpeenid on keemiliselt kõige mitmekesisem lenduvühendite grupp ning need annavad taimede eeterlikele õlidele iseloomuliku lõhna ja võivad olla putukatele nii ligimeelitava kui ka tõrjuva iseloomuga (Cheng et al., 2007; Dudareva et al., 2004). Monoterpeenid ( $C_{10}H_{16}$ ) koosnevad kahest isopreeni lülist ja seskviterpeenid ( $C_{15}H_{24}$ ) kolmest lülist. Monoterpeene ja seskviterpeene seostatakse taime kaitsereaktsiooniga patogeenide ja herbivooride vastu – need on samuti osa lenduvühenditest, mida taimed herbivoori rünnaku järel õhku paiskavad ning mis annavad signaalmolekulidena märku herbivooride looduslikele vaenlastele nende saaklooma asukoha (Cheng et al., 2007).

Otsides sobilikku munemistaimet, reageerivad putukad nii taimede eritatud lenduvühendite kogusele, kuid samas ka kindlatele ühendite kompositsioonile, mis iseloomustab kvaliteetset munemistaimet või taimet, mida tuleks munemistaimena vältida (Bertea et al., 2020; Bruce et al., 2010; Fatouros et al., 2012). Kui suurel määral on taimereaktsioonid liigispetsiifilised, on veel vähe uuritud (Hilker & Fatouros, 2015). Samas ei ole veel palju teada ka selle kohta, kas ja kuidas putukad võivad mõjutada taime lenduvühendite tootmist enda kasuks (Bertea et al., 2020) ning kuidas võivad taimede lenduvühenditega seotud olla putukate sümbiontsed bakterid (Hammer & Bowers, 2015; van den Bosch & Welte, 2017).

### 3. Meetodid

Pruun-kuldtiiva munemiskäitumise uurimiseks viidi läbi kolme erinevat tüüpi katseid. Esiteks viisime läbi munemiseelustus-katsed emasliblikatega 2018. ja 2019. aastal. Asustustiheduse mõju röövikute edukusele uurisime 2019. aastal röövikute kasvatuskatse käigus. Lisaks mõõtsime röövikute toidutaimede väikese oblika lenduvühendeid 2018. aastal.

#### 3.1. Uurimisobjektid

##### 3.1.1. Pruun-kuldtiib

Pruun-kuldtiib on sinilibliklaste (*Lycaenidae*) sugukonda kuuluv päevaliblikas, kelle areaal ulatub Euroopast Kesk-Aasiani. Liblikaliik on pehmete talvede sagenemisega seoses laiendanud jõudsalt oma areaali põhja poole, kus levila põhjapiir on jõudnud Lõuna-Soomeni (Suomen Lajitietokeskus) samas kui Euroopa levila lõunapoolseimatel aladel Kataloonias on liik hääbunud (Parmesan et al., 1999). Eestisse jõudis liblikaliik 1990. aastate teises pooles ning on praeguseks levinud üle kogu maa (Tiitsaar et al., 2019). Kuigi tegemist on Euroopas laialt levinud liigiga, mõjutab ka seda liiki sobilike niidualade majandamise intensiivistamine (sh väetamine) ja elupaikade hääbumine (Fischer & Fiedler, 2000; Martins, 2011).

Liblikaliigi röövikud on monofaagsed ning toituvad hapu oblika (*R. acetosa*) ja väikese oblika taimedest (Õunap & Tartes, 2014; Tolman & Lewington, 2008). Röövikud on varjevärvusega ning sinilibliklastele tavapärane mürmekofiilne seos puudub või esineb seda vähesel määral viimases rööviku kasvujärgus ja nukustaadiumis (Fiedler, 1989, Bink & Moenen, 2015). Pruun-kuldtiib asustab peamiselt päikesele avatud kuivasid ja liivase pinnasega elupaikasad, kus leidub tema röövikute toidutaimed, levila piires kohtab teda aga erinevates taimekasvukohatüüpides (Martins, 2011; Õunap & Tartes, 2014; Tolman & Lewington, 2008).

Eestis on liik bivoltinne – esimene põlvkond lendab mai teisest poolest kuni juuni lõpuni ning teine põlvkond juuli lõpust augusti lõpuni (Õunap & Tartes, 2014). Lõunapoolsematel soojema kliimaga aladel võib liigil ühe aasta jooksul esineda ka rohkem kui kaks põlvkonda (Tolman & Lewington, 2008). Pruun-kuldtiib talvitub röövikuna – teise põlvkonna röövikud jäävad kolmandas kasvujärgus diapausi ja talvituvad toidutaimede jalamil (Martins, 2011; Tolman & Lewington, 2008). Pruun-kuldtiiva isasisendid on territoriaalsed ja võivad hoiduda mõne õitseva põõsa ligi, kus nad ootavad möödalendavaid emasisendeid (Bink & Moenen, 2015). Isased pruun-kuldtiivad on võrreldes emastega ka aktiivsemad ning lendavad elupaigas pikemaid vahemaid, et leida emaseid ning kaitsta oma territooriumi, samuti on leitud, et isased pruun-kuldtiivad külastavad rohkem õisi kui emased, kuna peavad katma kõrgema

aktiivsusega kaasnevat suuremat energiakulu (Reim et al., 2018). Emaseid liblikaid kohtab tihti aga just röövikute toidutaimede läheduses (Reim et al., 2018).

Kuigi pruun-kuldtiiva munemiskäitumist on uuritud eri aspektide poolest (nt. Fischer & Fiedler, 2000; Pradel et al., 2011), puuduvad varasemad uuringud sellest, kuidas liigikaaslased mõjutavad selle liigi munemiskäitumist. Teda on, et pruun-kuldtiivad eelistavad muneda põhjapoolsematel aladel madalamatele taimedele maapinnast 1-5 cm kõrgusele, et tagada piisavalt soe mikrokliima vastsete arenguks (Pradel et al., 2011). Munemisel ei tee emasliblikad vahet, kui kõrge lämmastiku sisaldusega on hapu oblika (*Rumex acetosa*) taimed, kuigi isendite elumus ja valmikute kehasuurus oli kõrge lämmastikusisaldusega taimedel oluliselt madalam, vastupidiselt mitmetele teiste liikidega tehtud uuringute tulemustele (Fischer & Fiedler, 2000).

Pruun- kuldtiivaga samasse perekonda kuuluv suur-kuldtiiva alamliik *L. dispar batavus* muneb looduses vaid jõgioblika (*R. hydrolapathum*) taimedele (Martin & Pullin, 2004) ning on leitud, et emased ei eelista mitte kindlate tunnustega taimi (nt kõrgus, lehtede arv), vaid munemiskoha valikul on olulisem taime paiknemine elupaigas ning taime ümbruses oleva taimestiku iseärasused (Martin & Pullin, 2004; Webb & Pullin, 2000). *L. d. batavus* emasliblikad eelistavad muneda taimedele, mis on päikesele avatud, kuid samas on oluline, et ka ümbritsev taimestik pakuks piisavalt varju järglastele sobivate mikrokliimaatiliste tingimuste tagamiseks (Webb & Pullin, 2000). Lisaks leiti samas uurimuses, et kuigi elupaigas oli palju sobivat liiki oblikataimi, munesid liblikad vaid vähestele taimeisenditele. See tingis olukorra, kus sealsete munade arv oli kõrge – kuni 73 muna taime kohta. Webb ja Pullin (2000) arvavad, et antud liigi puhul munevad emased liblikad taimedele, kus on juba liigikaaslaste munad ees, kuid seda ei ole katseliselt näidatud.

### **3.1.2. Väike oblikas**

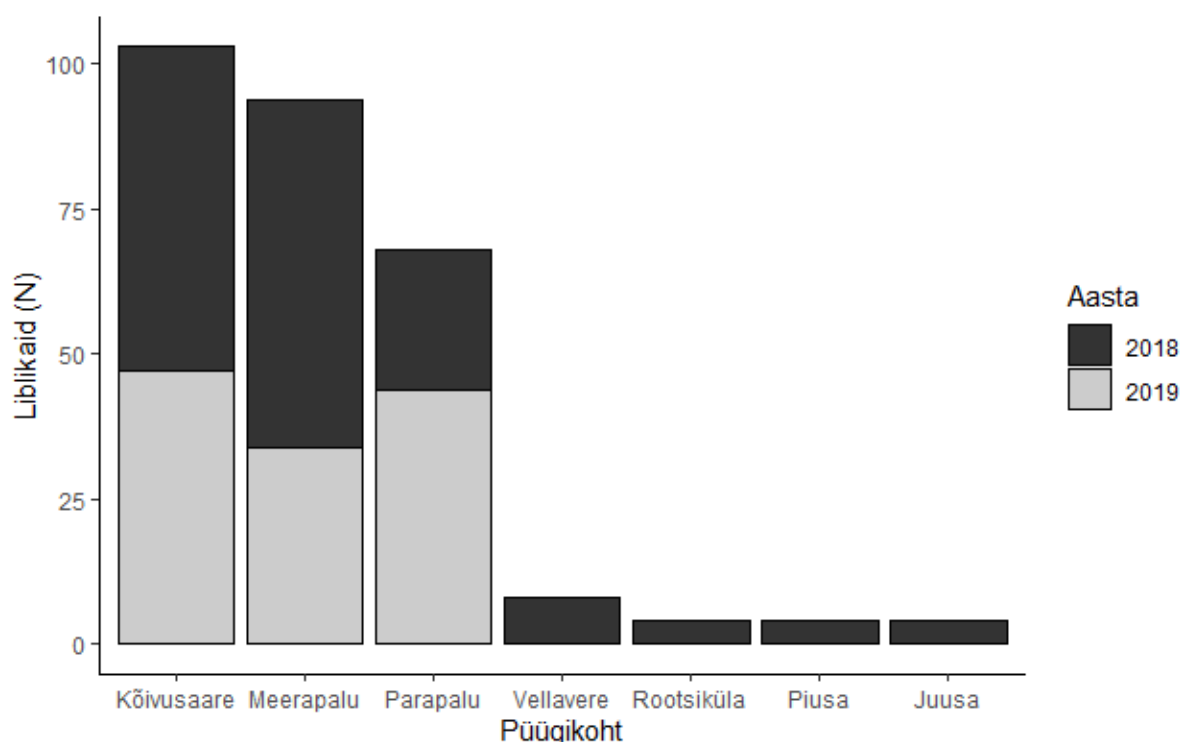
Väike oblikas on Eestis sageli esinev taimeliik, kes kasvab lubja- ja toitainevaesetel muldadel, kuivadel niitudel, kinkudel, raiesmikel, teeäärtel ning umbrohuna ka põldudel (Krall et al., 2010). Taimeliik on kohastunud hakkama saama põuases ja kuivas elupaigas, kus enamik teisi taimi kuivavad läbi ja surevad (Hintikka, 1990). Väikesel oblikal on roomavad juured ning liik sigib peamiselt vegetatiivselt võsundite ehk rametite abil (Putwain et al., 1968). Uute võsundite loomist hoogustab herbivooria ja juurte katki tegemine (Putwain, 1970).

Väike oblikas sisaldab palju antioksidante (Sabuncu et al., 2019), peamiselt flavoonglükosiide (Kawasaki et al., 1986). Lenduvatest ühenditest sisaldab väike oblikas enim süsivesinikke, seejärel terpenoide, aldehyüde ning kõige vähem ketoone (Bozoudi et al., 2011). Bozoudi et al. (2011) uurimuses ei leitud väikesel oblikal lenduvühenditena estreid ega

alkohole. Autorile teadaolevalt ei ole rohkem avaldatud teavet väikese oblika lenduvühendite kompositsiooni kohta. Täiesti puuduvad väikese oblika kohta käivad herbivooride poolt indutseeritud lenduvühendite uuringud.

### 3.2. Pruun-kuldtiiva munemiseelistus-katsed

Pruun-kuldtiiva emaste liblikatega viidi läbi munemiseelistus-katsed, et uurida, kuidas liigikaaslaste munade olemasolu potentsiaalsel munemistaimel mõjutab liblikate munemiseelistust. Katsed viidi läbi 2018. ja 2019. aastal juuli- ja augustikuus pruun-kuldtiiva teise põlvkonna emaste liblikatega Tartu ülikooli ökoloogia ja maateaduste instituudi entomoloogia laboris. Enamus katsetes kasutatud liblikatest koguti Järvelja looduskaitseala ümbrusest Parapalu, Meerapalu ja Kõivusaare külade ligidal asuvatelt kuivadelt niitudelt (Joonis 1). Lisaks koguti üksikuid liblikaid ka Vellavere, Rootsiküla, Juusa/Tedre ja Piusa elupaikadest. Magistriprojekti jaoks püütud isendite püügiandmed ja täpsemad asukohad on kantud PlutoF andmebaasi ja on leitavad käesoleva magistritöö nimega projekti alt (PlutoF projekt).



Joonis 1. Katses kasutatud liblikate püügikohad.

Kogutud liblikaid hoiti enne katseid standardiseeritud tingimustes. 2018. aastal hoiti liblikaid kliimakapis koos taimedega päeval kuni kella 20.00-ni 16 °C juures ning öösel kella 20.00 kuni 7.00 10 °C juures. 2019. aastal hoiti liblikaid pärast püügipäeva kuni katse alguseni

kliimakapis 16 °C juures kuni kella 21.00 ning öösel 10 °C juures. Väike oblika taimed koguti 2018. aastal Tartumaalt Kambja lähistelt ning 2019. aastal Põlvamaalt Palojärve ümbrusest. Kogutud taimed pandi kasvama eraldi topsidesse rametite kaupa. Enne katseperioodi algust hoiti neid standardiseeritud tingimustel kliimakappides ning kasteti veega.

Taimedena kasutati nelja erinevat töötlust:

- 1) liigikaaslaste munadega taim (enne katse algust oli taimele sama liigi liblikas munenud);
- 2) eemaldatud munadega taim (algselt liigikaaslase munadega taim, millelt eemaldati munad enne katse algust);
- 3) kleebitud munadega taim (algselt munadeta kontrolltaim, millele kleebiti munad kahepoolse läbipaistva teibiga);
- 4) kontrolltaim (liblikaga varasem kokkupuude puudus).

Kahel aastal tehtud katsed erinesid katsedisaini poolest. 2018. aastal läbi viidud katsetes oli üheks replikaadiks liblikas koos nelja eri töötlusega taimega. Need neli taime asetati juhuslikus omavahelises asetuses õhuaukudega katsekarbi nelja nurka nii, et võimalikult paljud lehed oleksid eksponeeritud, kuid et taimed omavahel kokku ei puutuks. Karbi keskele oli asetatud tops, millel oli suhkrulahusega immutatud värviline salvrätt liblikale toiduks. Karbi põhjas hoiti termomeetrit, et kontrollida temperatuuritingimusi katse jooksul. Emasliblikas lasti ettevalmistatud katsekarpi lahti ning karp jäeti kaheksaks tunniks lambi alla, et tagada piisav temperatuur ja valgus emasliblika munemiseks. Katsepäeva lõppedes võeti liblikas taimede juurest ära ning loeti taimedel olevad munad üle, et saada teada juurde munetud munade arv.

2019. aastal kasutati samasid taime töötluseid, mis eelnevalgi aastal, kuid erines see, kuidas taimesid liblikale eksponeeriti. 2019. aastal oli üheks replikaadiks üks liblikaisend koos ühe taimega neljast võimalikust töötlusest. Üks juhuslikust töötlusest taim koos ühe liblikaga pandi õhuaukudega katsekarpi ning hoiti terve katsepäeva vältel (8h) kontrollitud tingimuste juures kliimakapis. Munemiseelistust hinnati juurde munetud munade arvu järgi 8 tunni möödudes. Iga liblikaga viidi katse läbi kaks korda, kus püügipäeva ning esimese katsepäeva vahel oli aklimatiseerumispäev ning samuti oli esimese ja teise katsepäeva vahel üks aklimatiseerumispäev. Liblikatele pandi nii katse- kui aklimatiseerumisperioodil söögiks värviline suhkrulahusega immutatud salvrätt.

Erinevatel aastatel kasutati erinevat katsedisaini, et täpsemalt selgitada taimetöötluse mõju. 2018. aastal kontrolliti, kas munemistaimel valikus esineb erinevusi, samas kui 2019. aastal selgitati konkreetse töötluse sobivust/mittesobivust munemistaimel otsivale liblikale (Singer, 2003). Mõlemal aastal kontrolliti, kas munetud munade arvus esineb taimetöötluste

vahel erinevusi (Leyva et al., 2003; Raitanen et al., 2014). Mõlemal aastal kaaluti liblikad nii enne katsepäeva algust kui ka katsepäeva lõppedes ning mõõdeti pärast katset liblikate parema tiiva pikkus tiiva kannast kuni tiiva tipuni. Kui parem tiib oli kahjustada saanud, siis mõõdeti pikkus vasakult tiivalt.

2019. aastal hoiti osasid emasliblikaid aklimatiseerumispäeval ühes katsekarbis viiekesi (nö. grupikatse). Selle töötuse eesmärgiks oli hinnata, et kas tihedam kokku puutumine emaste valmikutega liigikaaslastega võib mõjutada munemiskäitumist ja munemistaime valikut munemiskatse jooksul.

Ühe lisatöötlusena oleks võinud munemiskatsetesse kaasata ka sellise kontrolltaime, kellel puudus eelnevalt kokkupuude liblikatega, kuid kellele oleks olnud kleebitud kahepoolne teip - seesama mida kasutati kleebitud munadega taimedel. Praegu ei saa välistada seda, et teibil endal võis olla negatiivne mõju munemiskäitumisele, kuigi siis oleks pidanud munemissagedus või juurde munetud munade arv kleebitud munadega taimedel olema väiksem kui kontrolltaimedel, aga nii ei olnud (vt. ptk. 4.1.1 Munemistaime valik).

### **3.3. Pruun-kuldtiiva röövikute kasvatuskatse**

Katse eesmärgiks oli hinnata nuku- ja valmikukaalude põhjal isendite edukust eri suurusega pesakondades üles kasvades ning seda, kas erinevate emaste poolt munetud kurnades üles kasvavate röövikute edukus erineb ühe emase poolt munetud pesakonnas kasvanute edukusest. Munemiskatsete lõppedes kasvatati taimedele munetud munadest üles röövikud ning lasti neil nukkuda. Ühele taimel munetud munasid loeti üheks pesakonnaks. Pesakonna suurus taimedel varieerus 3 kuni 60 isendini. 13 juhul 48 pesakonnast kasvasid samal taimel koos mitme emase järeltulijad, ülejäänutel juhtudel olid taimedel vaid ühe emasisendi järeltulijad.

Röövikute toiduta jäämise vältimiseks, vahetati toidutaimi vastavalt vajadusele, aga mitte rohkem kui kuus korda. Lisataimedena kasutati eelnevalt katses kasutatud väikese oblika taimi, mille puhul veenduti, et seal ei oleks munasid ega röövikuid ning samuti Tartu külje alt Tähtverest kogutud väikese oblika taimi. Nukud kaaluti ning lasti kooruda, et määrata nende sugu. Osa koorunud liblikaid lasti loodusesse tagasi ning teist osa kasutati hariduslikel eesmärkidel õpi- ja töötubades.

### **3.4. Väikese oblika lenduvühendite mõõtmiskatse**

Munadega taimedel ning kontrolltaimedel mõõdeti lenduvühendeid kaheksakambrilises õhuvoolutussüsteemis. Katsed viidi läbi Eesti Maaülikooli lenduvühendite analüüsi laboris. Iga väikese oblika taim paigutati eraldi õhukindlasse kambrisse, millest voolutati läbi eelnevalt filtreeritud välisõhku. Kambritest välja tulev õhk, mis sisaldas taimede lenduvühendeid, koguti

süsiniktorudesse, kuhu molekulid jäid kinni vastavalt oma molekulmassile. Ainete sisalduse määramiseks süsiniktorudes kasutati Shimadzu 2010 Plus gaasikromatograafia-massispektromeetria (GC-MS) aparaati. Proove analüüsiti võrreldes referentsõhuga (sissetulev välisõhk) gaasikromatogrammil. Katses koguti 12 l õhku 1h jooksul ühe taime kohta.

Katse toimumise ajal mõõdeti CIRAS-3 Gas Analyser aparaadiga CO<sub>2</sub> ja H<sub>2</sub>O kontsentratsioone erinevates kambrites. Mida suurem erinevus tuvastati võrreldes välisõhuga, seda aktiivsemalt taim fotosünteesis. Antud katse puhul sõltus mõõdetud kontsentratsioonide väärtus suuresti sellest, kui suur taim oli ning kui palju lehti tal oli. Seetõttu arvutasime lehtede pindala, kasutades ImageJ programmi skannitud laiali laotud lehtedest tehtud piltide põhjal, et arvutada sünteesitud lenduvühendite hulk lehe pindalaühiku kohta.

### 3.5. Andmeanalüüs

Emasliblikate munemistaimede eelistuse mõõtu hindasime kahe erineva mudeli abil. Esiteks kasutasime mudelit, mis võrdles juhte, kus liblikad munesid, nendega, kus nad katse jooksul munele ei hakanud. Esimeses mudelis oli sõltuvaks muutujaks see, kas liblikas munes või ei munenud. Teiseks kasutasime mudelit, kuhu olid kaasatud vaid need katsed, mille jooksul liblikas munele hakkas ning kus hindasime munemiseelistust juurde munetud munade arvu järgi eri töötlustega taimedel. Sõltuvaks muutujaks teises mudelis oli niisiis juurde munetud munade arv ning mudelist jäid välja need katsed, kus juurde munetud munade arv oli null. Analüüsides arvestati seda, mitmendat korda liblikas katses oli, et vältida pseudoreplikatsiooni. Kovariaatidena võeti arvesse liblika tiivapikkus, kaaluiive (kaal pärast katse lõppu – kaal enne katse algust), katse temperatuur, katse kestvus, taime kõrgus ning lehtede arv. Juhuslike faktoritena võeti arvesse ka liblika ning taime isendid. Mõlemast mudelist jäeti välja 2019. aastal grupis hoitud liblikate kohta käivad andmerekad, kuid grupis hoidmise mõju uuriti eraldi mudelites, mis olid analoogsed eeltoodud kahe mudeliga – ühes mudelis oli sõltuvaks muutujaks see, kas liblikas munes katse jooksul, ning teises mudelis juurdemunetud munade arv.

Kogu andmeanalüüs viidi läbi tarkvaraprogrammis R studio (versioon 1.3.959, R Core Team, 2020). Munemiskatse andmete analüüsiks kasutati *glmer* funktsiooni paketest *lme4* (Bates et al., 2015). Võttes aluseks tõepärasuhte testi (*likelihood ratio*) meetoodika (Bolker, 2021) leiti *anova* funktsiooniga baaspaketist *stats* (R Core Team, 2020) mudelis olevate peamõjude hii-ruut väärtused, vabadusastmed ning p-väärtused. Aasta ning grupitöötluste peamõju koosmõju taimetöötlustega kontrolliti samuti tõepärasuhte testiga (Bolker, 2021). Mudelite puhul, kus sõltuvaks muutujaks oli see, kas liblikas munes või mitte, kasutati

binoomjaotust ning mudelite puhul, kus sõltuvaks muutujaks oli munetud munade arv, eeldati Poissoni jaotust. Aklimatiseerumispäeval grupis hoitud liblikaid analüüsiti eraldi (neid üldanalüüsidesse ei kaasatud) ning ühtse katseteoodika tõttu võrreldi neid ainult 2019. aastal aklimatiseerumisperioodil üksi hoitud libikatega.

Röövikute kasvatuskatsete andmete põhjal uurisime, kas nuku ja valmiku kaal sõltus pesakonna suurusest. Võtsime pesakonna juhuslikuks muutujaks röövikute kasvatamiskatse analüüsil, kasutades selle lähendina konkreetset taime, kust munad saadi ning millel röövikud üles kasvasid. Kovariaatidena arvestasime mudelis seda, kas munad olid munetud ühe või mitme emase poolt, koorunud vastsete arvu (pesakonnas suurust) ning nuku kaalu puhul ka sugu. Analüüsiks kasutati *lmer* funktsiooni pakettis *lme4* (Bates et al., 2015) ning ANOVA (*Analysis of variance*) abil baaspaketist *stats* (R Core Team, 2020) leiti vabadusastmed ning F-statistiku väärtused ja tõenäosused (p- väärtused).

Taimede lenduvühendite mõõtmise katse eesmärgiks oli leida, kas munadega taimede lenduvate ühendite kompositsioon erineb kontrolltaimede õhku paisatud ühenditest. Selleks jaotasime lenduvühendite mõõtmiskatse tulemusena saadud ained järgmistesse gruppidesse:

- lipoksügenaasi raja (LOX-raja) saadused;
- monoterpeenid;
- seskviterpeenid;
- pikaahelalised aldehüüdid;
- alkeenid.

Leitud lenduvühendite koguseid kontrolliti lineaarse mudeliga (*lm*) baaspaketist *stats* (R Core Team, 2020), kus sõltumatute muutujatena võeti arvesse munade olemasolu taimel ning taime lehtede pindala.

### **3.6. Töö autori roll**

Töö autor osales magistriprojekti kõikides osades. Juhendajate kaasabil planeeriti katsete disainid, tehti katseteks vajalikud ettevalmistused nagu liblikate püüdmine, taimede kogumine, labori ettevalmistamine ning viidi läbi katsed. Töömahukamate ülesannete juures ning välitöödel oli aeg-ajalt abiks teisi inimesi. Statistikust eksperdi ja juhendajate juhendamisel viis töö autor läbi andmeanalüüsi ning kirjutas ja vormistas magistritöö.

## 4. Tulemused

### 4.1. Munemiseelistus-katsed

#### 4.1.1. Munemistaimede valik

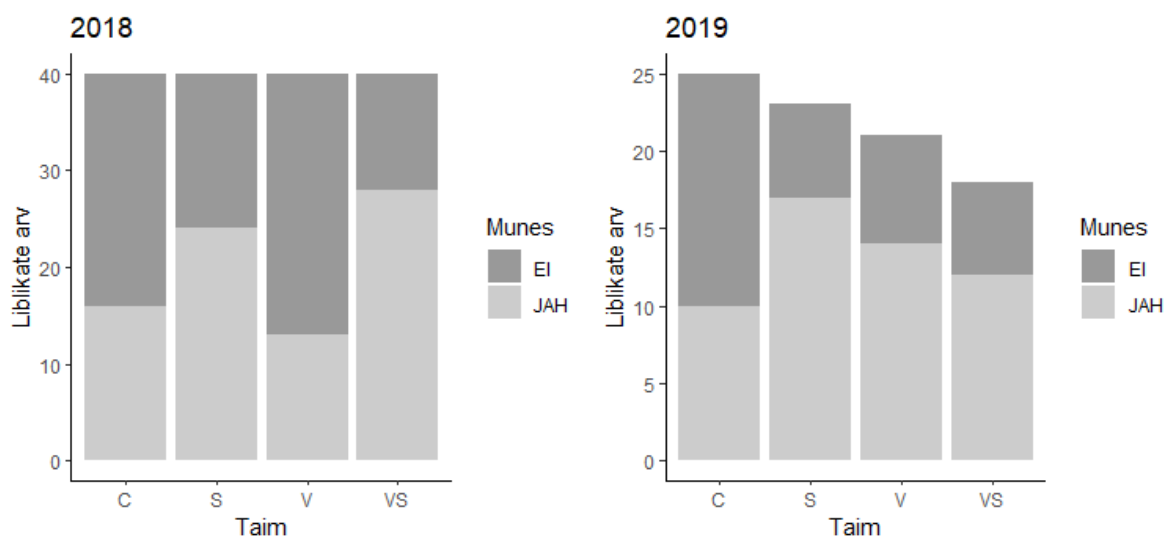
Kokku viidi kahe aasta jooksul läbi munemiseelistus-katsed 106 pruun-kuldtiiva emasliblikaga, kellest 33 kasutati 2018. aastal ning 73 liblikat 2019. aasta katsetes. Esimesel aastal kasutati 33 liblikast 5 liblikat teisel katseringil ning neist omakorda kasutati kahte liblikat katsetes ka kolmandat korda. Teisel aastal kasutati 73 liblikast 53 isendit ka teisel korral. Seda, kui mitu korda liblikaisend katses oli käinud, arvestati ka andmeanalüüsi mudelites tunnuseks „katsekord“.

Kokku kasutati katsetes 150 eri väikese oblika taimet, neist 2018. aastal 81 ja 2019. aastal 69 isendit. Munade munemine ei vigastanud väikese oblika lehestruktuuri ning samuti ei tekkinud väikesel oblikal morfoloogiliselt nähtavat vastureaktsiooni munetud munadele katseperioodi jooksul.

Mõlema aasta katseid koos analüüsidest ning uurides aasta ja taimetöötluse koosmõju tõepärasuhte testiga (Bolker, 2021) selgus, et aastal puudub statistiliselt oluline koosmõju taimetöötlustega ( $\chi^2 = 4,95$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0,18$ ) ning seega analüüsiti kahe aasta andmeid koos. Töötlusel, aastal/ katsedisainil ja valmiku laboris hoitud päevade arvul oli kõigil munemisotsusele (munes/ ei munenud) oluline mõju (Tabel 1). Pruun-kuldtiiva emasliblikad munesid oluliselt sagedamini munadega ning eemaldatud munadega taimedele kui kontrolltaimedele (Joonis 2, Tabel 2). Kõikide katsete peale kokku munesid emasliblikad 54,3% juhtudest, kuid 2019. aastal munesid liblikad sagedamini kui 2018. aastal. 2018. aastal munesid liblikad 50,1% katsetest ja 2019. aastal 60,9% katsetest (Tabel 2, Joonis 2). Kauem laboris hoitud liblikad munesid katse jooksul tõenäolisemalt kui lühemat aega laboris hoitud liblikad. Muud kaasatud tunnused munemiseelistust oluliselt ei mõjutanud, kuigi munemine kaldus positiivselt seostuma taimede lehtede arvu ja liblika kaaluga (Tabel 1).

**Tabel 1.** Logistilise regressiooni tulemused munemisotsust (munenud/ ei munenud) mõjutavate tegurite kohta (katseaastad koos). Tärniga on märgitud oluliseks osutunud muutujate p-väärtused ( $p < 0,05$ ) ning punktiga olulise lähedaseks osutunud p-väärtused ( $0,5 < p < 0,1$ ).

Tunnus	Hii-ruut ( $\chi^2$ )	Vabadusaste (df)	Tõenäosus (p)
Taime töötlus	14,24	3	0,003*
Aasta	5,91	1	0,015*
Tiivapikkus	1,96	1	0,161
Kaaluüve	2,95	1	0,086.
Laboriiga	4,34	1	0,037*
Temperatuur	0,02	1	0,878
Taime kõrgus	1,63	1	0,201
Taime lehtede arv	3,03	1	0,082.
Katsekord	3,67	2	0,160



**Joonis 2.** Katsete jooksul munenud liblikate osakaal 2018. ja 2019. aastal. C - kontrolltaim, S - eemaldatud munadega taim, V - kleebitud munadega taim, VS – liigikaaslaste munadega taim.

**Tabel 2.** Üldistatud lineaarse segamudeli (glmer, binaarne jaotus) tulemused töötluste ja kontrolltaimede munemisotsuse (munes/ ei munenud) võrdluste kohta. Vaatlusi: N=247, taimi: N= 139; liblikaid: N=89. Tärniga on märgitud oluliseks osutunud muutujate p-väärtused ( $p < 0,05$ ) ning punktiga olulise lähedaseks osutunud p-väärtused ( $p < 0,1$ ).

Töötlus	Hinnang	Standardviga	z-statistik	Tõenäosus (p)
Eemaldatud munadega taim	1,21	0,48	2,51	0,012*
Kleebitud munadega taim	0,11	0,46	0,23	0,817
Munadega taim	1,52	0,51	2,96	0,003*

Enne katset grupis ja üksi hoitud liblikate munemistaimede valikut uurides leiti tõepärasuhte testi (Bolker, 2021) abil munemiseelistuse vahel oluline erinevus (hii-ruut = 9,63;  $df=3$ ;  $p = 0,022$ ) ning seega erines töötluste mõju aklimatiseerumispäeva asustustihedusest sõltuvalt. Seetõttu analüüsiti grupis hoitud liblikate katsete andmeid eelnevalt toodud andmetest eraldi ja neid andmeid võrreldi sarnase metoodika tõttu vaid 2019. aasta aklimatiseerumispäeval üksi hoitud liblikate andmetega. Kuna valim oli nende töötluste puhul väike ning andmetes esines koonduvusprobleeme, siis pidin mudeleid lihtsustama ning jätma välja järgmised tunnused: tiivapikkus, kaaluüve, temperatuur ja katsekord (Tabel 3).

**Tabel 3.** Logistilise regressiooni tulemused 2019. aasta katsetes üksi ja grupis hoitud pruun-kuldtiibade munemisotsust (munes/ ei munenud) mõjutavatest teguritest. Punktiga on märgitud olulise lähedaseks osutunud p-väärtused ( $0,5 < p < 0,1$ ).

Tunnus	Üksi			Grupis		
	<i>hii-ruut</i> ( $\chi^2$ )	<i>Vabadusaste</i> ( <i>df</i> )	<i>Tõenäosus</i> ( <i>p</i> )	<i>hii-ruut</i> ( $\chi^2$ )	<i>Vabadusaste</i> ( <i>df</i> )	<i>Tõenäosus</i> ( <i>p</i> )
<b>Taime töötlus</b>	6,51	3	0,089.	2,34	3	0,504
<b>Laboriiga</b>	3,84	1	0,050.	1,48	1	0,224
<b>Taime kõrgus</b>	0,03	1	0,857	1,00	1	0,317
<b>Taime lehtede arv</b>	0	1	1	0	1	1

Kui üksi hoitud liblikad 2019. aastal eelistasid muneda rohkem munadega ja eemaldatud munadega taimedele kui kontrolltaimedele, siis grupis hoitud liblikate puhul ei tuvastatud olulisi erinevusi munemiseelistuses kontrolltaimede ja teiste taimetöötluste vahel (Tabel 4). Grupis hoitud liblikad munesid taimedele katse jooksul sagedamini võrreldes üksi hoitud liblikatega (Joonis 3). Täpsemalt munesid grupis hoitud liblikad 82% juhtudest, samas kui üksi hoitud liblikad munesid 61% juhtudest.

**Tabel 4.** Üldistatud lineaarse segamudeli (glmer, binaarne jaotus) tulemused töötluste ja kontrolltaimede munemisotsuse (munes/ ei munenud) võrdluste kohta aklimatiseerumisperioodil üksi ja grupis hoitud pruun-kuldtiibadel. Tärniga on märgitud oluliseks osutunud muutujate p-väärtused ( $p < 0,05$ ).

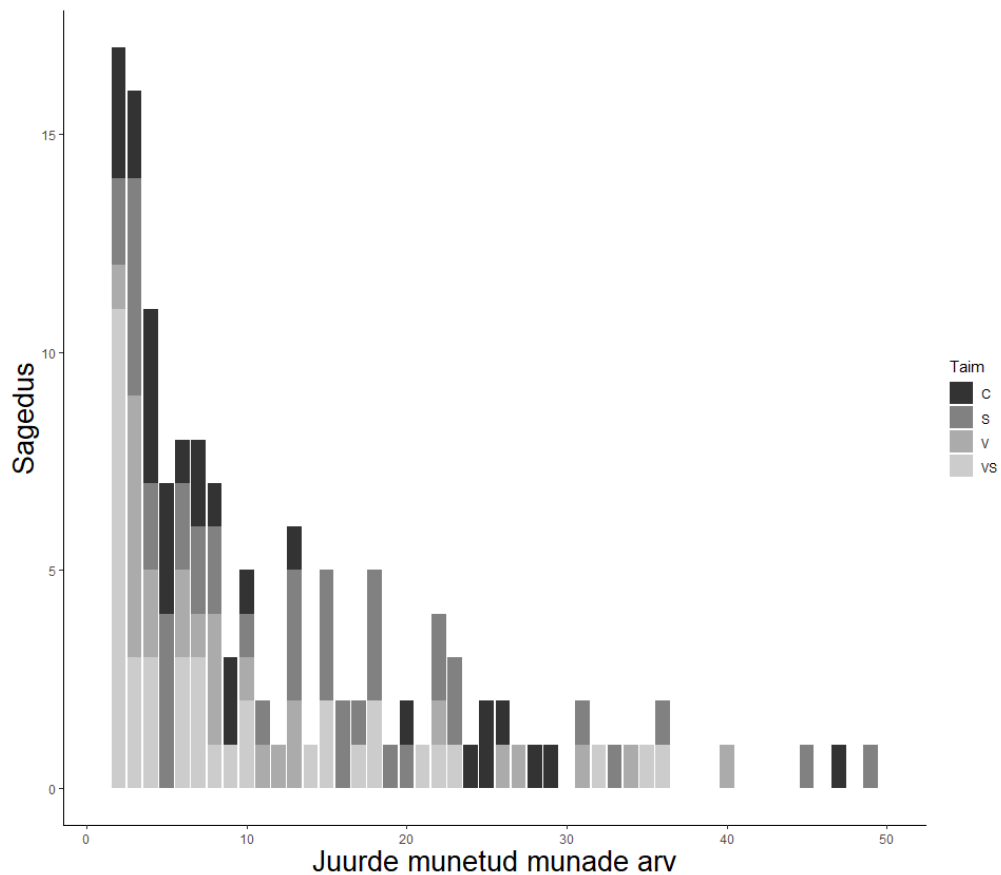
Tunnus	Üksi				Grupis			
	<i>Hinnang</i>	<i>Standardviga</i>	<i>z</i>	<i>Tõenäosus</i> ( <i>p</i> )	<i>Hinnang</i>	<i>Standardviga</i>	<i>z</i>	<i>Tõenäosus</i> ( <i>p</i> )
<b>Eemaldatud munadega taim</b>	7,35	3,14	2,34	0,019*	0,89	1,70	0,52	0,602
<b>Kleebitud munadega taim</b>	6,08	4,08	1,49	0,136	-0,63	1,67	-0,38	0,706
<b>Munadega taim</b>	13,54	4,52	3,00	0,003*	-1,00	1,40	-0,71	0,475



**Joonis 3.** Katsete jooksul mununud liblikate osakaal 2019. aastal eristades aklimatiseerumispäeval üksi ja grupis hoitud liblikaid . C - kontrolltaim, S - eemaldatud munadega taim, V - kleebitud munadega taim, VS - munadega taim

#### 4.1.2. Juurde munetud munad

Mõlema aasta katseid koos analüüsides ning uurides aasta ja taime töötluse koosmõju tõepärasuhte testiga (Bolker, 2021) selgus, et aastal puudub statistiliselt oluline koosmõju taimetöötlustega ( $\chi^2 = 4,019$ ;  $df = 3$ ;  $p = 0,259$ ) ning seega analüüsiti kahe aasta andmeid koos ka selle mudeli puhul. Keskmiselt oli töötlusega taimedel enne 10 muna (standardviga  $\pm 0,60$ ; mediaan = 8 muna) ning kui taimedele muneti, siis keskmiselt muneti juurde samuti 10 muna (standardviga  $\pm 0,82$ ; mediaan = 6 muna) kõikide taimetöötluste lõikes. Kuna juurde munetud munade puhul oli tegemist loendatud andmetega, siis ei ole need normaaljaotusega ja analüüsides kasutati Poissoni jaotuse eeldust (Joonis 4).

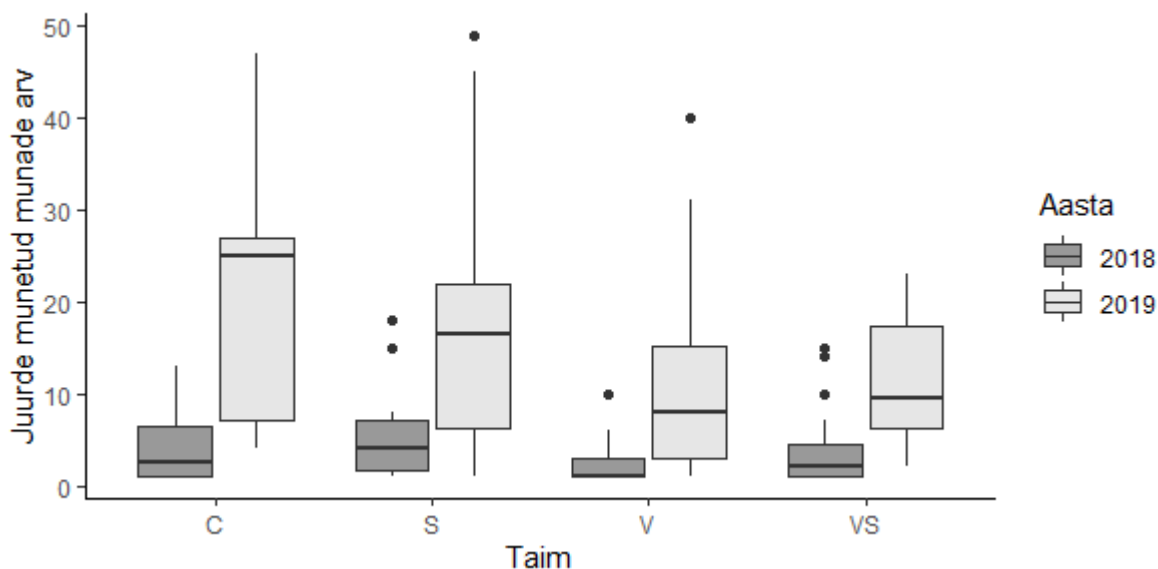


**Joonis 4.** Juurde munetud munade sagedusjaotus kõigi katsete lõikes sh. grupitöötlus. C - kontrolltaim, S - eemaldatud munadega taim, V - kleebitud munadega taim, VS - munadega taim

Töötlusel, aastal/ katsedisainil, katse temperatuuril ja taime kõrgusel oli kõigil oluline mõju taimele munetud munade arvule (Tabel 5). Arvestades vaid neid kordi, kus liblikad katse jooksul munesid, muneti vähem mune munadega taimedele kui kontrolltaimedele (Tabel 6). Arvestades ainult juurde munetud munasid, oli keskmine ühele taimele munetud munade arv kahe aasta lõikes erinev. 2018. aastal, kui igale liblikale pakuti korraga kõigi nelja erineva töötlusega taimi, oli keskmine munetud munade arv vahemikus 3,7 kuni 5,3 muna (mediaan 1 kuni 4 muna). 2019. aastal, kui korraga pakuti igale liblikale vaid üht taime töötlust, oli keskmine juurde munetud munade arv kõrgem jäädes vahemikku 12,3 - 17,9 (mediaan 8 kuni 16,5 muna) (Joonis 5). Positiivselt oli munetud munade arvuga seotud temperatuur ja taimede kõrgus (Tabel 5).

**Tabel 5.** Üldistatud lineaarse segamudeli tulemused (aastad koos) kus uuriti juurde munetud munade arvu nende katsete hulgast, mille jooksul liblikad taimele munes. Tärniga on märgitud oluliseks osutunud muutujate p-väärtused ( $p < 0,05$ ) ning punktiga olulise lähedaseks osutunud p-väärtused ( $0,5 < p < 0,1$ ).

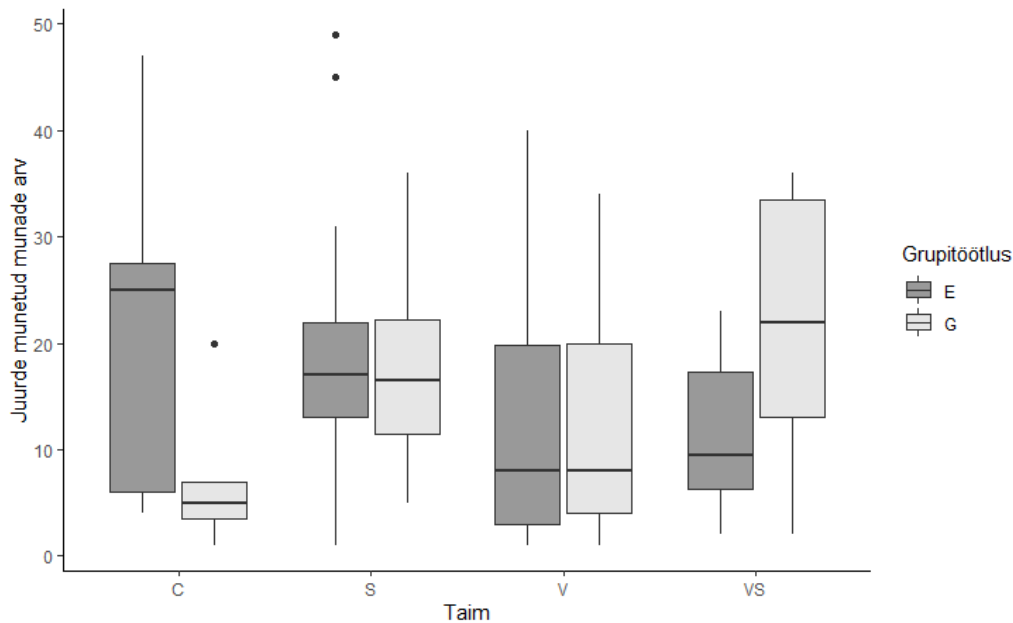
<i>Tunnus</i>	<i>Hii-ruut (<math>\chi^2</math>)</i>	<i>Vabadusaste (df)</i>	<i>Tõenäosus (p)</i>
<b>Taime töötlus</b>	13,52	3	0,004*
<b>Aasta</b>	28,83	1	<0,001*
<b>Tiivapikkus</b>	0,001	1	0,972
<b>Kaaluiive</b>	1,50	1	0,220
<b>Laboriiga</b>	0,16	1	0,685
<b>Temperatuur</b>	4,58	1	0,032*
<b>Taime kõrgus</b>	9,60	1	0,002*
<b>Taime lehtede arv</b>	3,23	1	0,072.
<b>Katsekord</b>	3,67	2	0,160



**Joonis 5.** Juurde munetud munade arv võrdlusena 2018. ja 2019. aasta katsetes, kus liblikad munesid. Kaasatud on vaid need katsed, mil liblikad katse jooksul munesid. C - kontrolltaim, S - eemaldatud munadega taim, V - kleebitud munadega taim, VS - munadega taim. Kastide ülemine ja alumine serv märgivad 25 ja 75 % kvartiile ning horisontaaljoon karbi keskel mediaani. Vurrude tippudeks on maksimaalne ja minimaalne väärtus, kui see ei olnud suurem kui 1,5\*kvartiilvahe (esimese ja kolmanda kvartiili vahe). Kui see oli suurem, siis oli tegemist erinditega, mis on joonisel kujutatud eraldi punktidena.

**Tabel 6.** Üldistatud lineaarse segamudeli (glmer, Poissoni jaotus) tulemused töötluste ja kontrolltaimede juurde munetud munade võrdluste kohta (aastad koos). Analüüsi kaasati ainult katse jooksul munenud liblikate andmed. Tärniga on märgitud oluliseks osutunud muutujate p-väärtused ( $p < 0,05$ ).

<i>Tunnus</i>	<i>Hinnang</i>	<i>Standardviga</i>	<i>Z</i>	<i>Pr(&gt; z )</i>
<b>Eemaldatud munadega taim</b>	-0,02	0,18	-0,12	0,907
<b>Kleebitud munadega taim</b>	-0,17	0,20	-0,88	0,382
<b>Munadega taim</b>	-0,48	0,18	-2,71	0,007*



**Joonis 6.** Juurde munetud munade arv 2019. aasta katsetes eristades aklimatiseerumispäeval üksi (E) ja grupina koos (G) hoitud liblikaid. C - kontrolltaim, S - eemaldatud munadega taim, V - kleebitud munadega taim, VS - munadega taim. Kastide ülemine ja alumine serv märgivad 25 ja 75 % kvartiile ning horisontaaljoon karbi keskel mediaani. Vurrude tippudeks on maksimaalne ja minimaalne väärtus, kui see ei olnud suurem kui 1,5\*kvartiilhaare (esimese ja kolmanda kvartiili vahe). Kui see oli suurem, siis oli tegemist erinditega, mis on joonisel kujutatud eraldi punktadena.

Tõepärasuhte testi (Bolker, 2021) abil leiti 2019. aastal enne katset grupis ja eraldi hoitud liblikate munetud munade arvu vahel statistiliselt oluline erinevus (hii-ruut = 13,64;  $df=3$ ;  $p = 0,003$ ). Grupis hoitud liblikad munesid enim mune munadega ja eemaldatud munadega taimedele, samas kui üksi hoitud liblikatel ei eristunud kontrolltaimedest ükski taime töötlus (Joonis 6, Tabel 8). Samas mida vanemad olid üksi hoitud liblikad seda vähem mune nad munesid (Tabel 7).

**Tabel 7.** Üldistatud lineaarse segamudeli tulemused juurde munetud munade arvu mõjutavatest teguritest aklimatisatsiooniperioodil üksi ja grupis hoitud liblikatel 2019. aasta katsetes. Tärniga on märgitud oluliseks osutunud muutujate p-väärtused ( $p<0,05$ ) ning punktiga olulise lähedaseks osutunud p-väärtused ( $0,5<p<0,1$ ).

Tunnus	Üksi			Grupis		
	hii-ruut ( $\chi^2$ )	Vabadusaste ( $df$ )	Tõenäosus ( $p$ )	hii-ruut ( $\chi^2$ )	Vabadusaste ( $df$ )	Tõenäosus ( $p$ )
Taimetöötlus	4,73	3	0,193	10,04	3	0,018*
Kaaluive	2,18	1	0,140	3,08	1	0,079.
Laboriiga	11,29	2	0,004*	0,89	1	0,345
Taime kõrgus	0,23	1	0,634	2,36	1	0,124
Taime lehtede arv	1,63	1	0,202	0,58	1	0,448

**Tabel 8.** Üldistatud lineaarse segamudeli (glmer, Poissoni jaotus) tulemused töötluste ja kontrolltaimede juurde munetud munade võrdluste kohta üksi ja grupis hoitud liblikatel 2019. aasta katsetes. Tärniga on märgitud oluliseks osutunud muutujate p-väärtused ( $p < 0,05$ ) ning punktiga olulise lähedaseks osutunud p-väärtused ( $0,5 < p < 0,1$ ).

Tunnus	Üksi				Grupis			
	Hinnang	Standard viga	z	Tõenäosus (p)	Hinnang	Standard viga	z	Tõenäosus (p)
<b>Eemaldatud munadega taim Kleebitud</b>								
<b>munadega taim</b>	0,51	0,31	1,66	0,097.	1,27	0,45	2,86	0,004*
<b>Munadega taim</b>	0,31	0,30	1,03	0,305	0,66	0,47	1,40	0,162
<b>Munadega taim</b>	0,02	0,27	0,09	0,927	1,19	0,39	3,08	0,002*

## 4.2. Röövikute kasvatuskatse

Nii nukkude kui ka valmikute kaal sõltus negatiivselt pesakonnas koorunud vastsete arvust (Tabel 9). See, kas röövikud arenesid segakurnas või tavakurnas ei mõjutanud nuku ega valmiku kaalu (Tabel 9). Nukkumine õnnestus 74% juhtudest.

Röövikute kasvatuskatse käigus jõudis nukustaadiumini 173 röövikut kokku 46 eri pesakonnast. Ühe emase poolt munetud kurnadest (tavakurn) pärines 143 röövikut (34 eri pesakonda) ning oli 30 röövikut, kes pärinesid 12st eri pesakonnast, mis olid munetud mitme emase poolt (segakurn). Keskmiselt oli munetud munakurna suuruseks sõltumata segakurna töötlustest 20,7 muna (standardhälve 0,5; mediaan = 17 muna) ning koorunud vastsete arv oli keskmiselt 15,6 röövikut (standardhälve 10,3; mediaan = 13 muna). Tavakurnas koorus keskmiselt 18 röövikut (standardviga  $\pm 0,8$ ), samas kui segakurnas koorus keskmiselt 11 röövikut (standardviga  $\pm 1,2$ ).

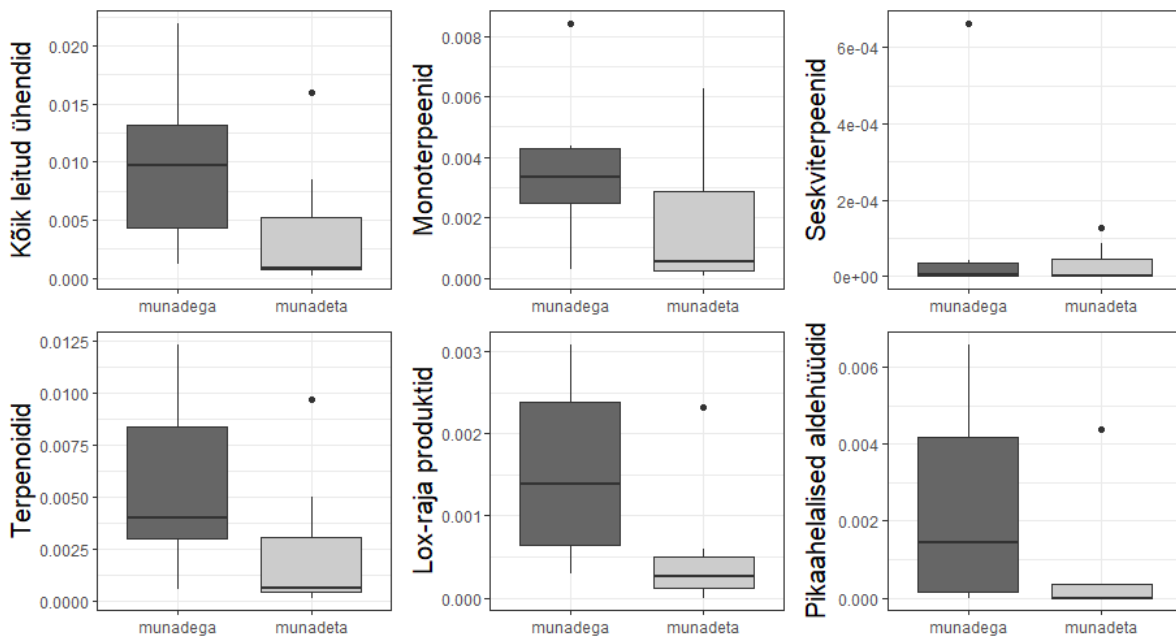
**Tabel 9.** Lineaarse segamudeli tulemused nukukaalu ja valmikukaalu mõjutavatest teguritest. Tärniga on märgitud oluliseks osutunud muutujate p-väärtused ( $p < 0,05$ ) ning punktiga olulise lähedaseks osutunud p-väärtused ( $0,5 < p < 0,1$ )

	NUKUKAAL					VALMIKUKAAL					
	N = 172, 46 kurna					N = 125, 44 kurna					
	Hinnang	Standard viga	df	t	Pr(> t )	Hinnang	Standard viga	df	t	Pr(> t )	
<b>Segakurn</b>	5,42	5,01	552,87	1,08	0,284	<b>Segakurn</b>	-0,03	2,22	441,65	--0,02	0,988
<b>Koorunud vastsete arv</b>	-0,43	0,20	445,89	2,08	0,043*	<b>Koorunud vastsete arv</b>	-0,19	0,09	334,82	--2,09	0,044*
						<b>Sugu (isane)</b>	-2,63	1,56	1116,65	--1,68	0,095.

### 4.3. Lenduvühendite mõõtmiskatse

Väikese oblika lenduvühendite mõõtmiskatsetel leiti 29 erinevat orgaanilist lenduvat ühendit (Tabel 10). Kontrolltaimed ja munadega taimed eristusid omavahel lenduvate ühendite poolest – munadega taimede koguemissioon lehepindala kohta oli munadeta kontrolltaimede emissioonist oluliselt suurem ( $F_{2,10}=3,64$ ;  $R^2=0,31$ ;  $p=0,0499$ ) (Joonis 7). Munadega taimed sünteesisid rohkem ka LOX-rajaprodukte võrreldes kontrolltaimedega ( $F_{2,10}=3,16$ ;  $R^2=0,26$ ;  $p=0,045$ ). Samuti kaldusid taimed, millel olid pruun-kuldtiiva munad, tootma rohkem monoterpeene ( $F_{2,10}=3,16$ ;  $p=0,085$ ;  $R^2=0,26$ ) ja pikaahelalisi aldehüüde ( $F_{2,10}=4,2$ ;  $R^2=0,35$ ;  $p=0,054$ ).

Väiksema lehepindalaga taimed sünteesisid sõltumata munade olemasolust rohkem pikaahelalisi aldehüüde ( $F_{2,10}=4,2$ ;  $R^2=0,35$ ;  $p=0,036$ ). Mida väiksem oli taimede lehepindala, seda suurem kaldus olema nende taimede sünteesitud lenduvühendite koguemissioon pindalaühiku kohta ( $F_{2,10}=3,64$ ;  $R^2=0,31$ ;  $p=0,068$ ) ning samuti kaldusid nad ka tootma ühe pindala ühiku kohta rohkem monoterpeene ( $F_{2,10}=3,16$ ,  $R^2=0,26$ ;  $p=0,065$ ).



**Joonis 7.** Keskmine väikese oblika (*Rumex acetosella*) lenduvühendite hulk (pmol/m<sup>2</sup>\*s) pruun-kuldtiiva munadega ja munadeta (kontroll) taimedel. Kastide ülemine ja alumine serv märgivad 25 ja 75 % kvartiile ning horisontaaljoon karbi keskel mediaani. Vurrude tippudeks on maksimaalne ja minimaalne väärtus, kui see ei olnud suurem kui 1,5\*kvartiilhaare (esimese ja kolmanda kvartiili vahe). Kui see oli suurem, siis oli tegemist erindiga, mis on joonisel kujutatud eraldi punktadena.

**Tabel 10.** Keskmise väikese oblika (*Rumex acetosella*) lenduvühendite hulk (pmol\*1000/m<sup>2</sup>\*min) munadeta kontrolltaimedel ja munadega taimedel, mis olid munetud emaste pruun-kuldtiiva poolt. Keskväärtuse järel on märgitud standardviga.

<b>Ainegrupp</b>	<b>Leitud aine</b>	<b>Munadeta taim (N=7)</b>	<b>Munadega taim (N=6)</b>
<b>Kõik leitud ühendid</b>		247.11 ± 135.40	595.21 ± 185.94
<b>Monoterpeenid</b>		112.18 ± 57.44	221.41 ± 66.85
<b>Seskviterpeenid</b>		1.86 ± 1.20	7.15 ± 6.54
<b>Muud terpenoidid</b>		147.16 ± 81.55	332.03 ± 109.97
<b>LOX-rajad produktid</b>		32.75 ± 18.33	92.76 ± 27.88
<b>Pikaahelalised aldehüüdid</b>		43.95 ± 36.85	142.60 ± 67.70
	<b>Isopreen</b>	21.40 ± 11.06	22.45 ± 16.70
	<b>3-kareen</b>	23.12 ± 11.80	38.48 ± 15.66
	<b>Kamfeen</b>	0.91 ± 0.81	1.61 ± 1.15
	<b>Limoneen</b>	9.10 ± 6.78	39.48 ± 29.49
	<b>p-kümeen</b>	0	2.54 ± 2.54
	<b>Pentaan</b>	18.08 ± 10.31	60.18 ± 41.39
	<b>Sabineen</b>	0.47 ± 0.47	4.33 ± 1.97
<b>Monoterpeenid</b>	<b>Tritsükleen</b>	0.38 ± 0.26	0.70 ± 0.44
	<b>α-fenseen</b>	0	0.04 ± 0.04
	<b>α-pineen</b>	52.97 ± 31.03	64.24 ± 20.07
	<b>α-tujeen</b>	1.26 ± 0.71	0.30 ± 0.08
	<b>β-fellandreen</b>	0.46 ± 0.15	1.52 ± 0.83
	<b>β-pineen</b>	5.43 ± 3.28	7.99 ± 2.74
	<b>Geraniülätsetoon</b>	1.86 ± 1.31	5.37 ± 3.92
	<b>Aromadendreen</b>	0	6.08 ± 6.08
<b>Seskviterpeenid</b>	<b>Longifoleen</b>	1.74 ± 1.17	0.91 ± 0.51
	<b>α-sedreen</b>	0.09 ± 0.09	0
	<b>β-elemeen</b>	0.03 ± 0.03	0.15 ± 0.13
	<b>6-metüül-5-hepteen-2-oon</b>	27.20 ± 25.25	57.63 ± 32.93
<b>Muud terpenoidid</b>	<b>Kamper</b>	1.46 ± 0.89	3.59 ± 1.12
	<b>Eukalüptool</b>	4.46 ± 2.64	42.24 ± 36.82
	<b>1-heksanool</b>	1.10 ± 0.72	2.90 ± 1.22
<b>LOX-rajad produktid</b>	<b>Tsükloheksaan-isotsüanaad</b>	1.52 ± 1.07	7.64 ± 5.47
	<b>Heksanaal</b>	13.38 ± 7.18	25.39 ± 15.70
	<b>Heksaan</b>	16.74 ± 12.54	56.84 ± 22.27
	<b>Dekanaal</b>	10.13 ± 9.45	34.01 ± 18.62
<b>Pikaahelalised aldehüüdid</b>	<b>Heptanaal</b>	8.95 ± 4.94	16.84 ± 7.68
	<b>Nonanaal</b>	16.30 ± 15.30	63.66 ± 31.82
	<b>Oktanaal</b>	8.57 ± 7.78	28.09 ± 12.96

## 5. Arutelu

Munemiskatsete tulemustest selgub, et liigikaaslaste munad mõjutavad pruun-kuldtiiva munemistaimede valikut ja munetud munade arvu. Pruun-kuldtiivad eelistavad munemiseks liigikaaslastega taimi, kuid munevad neile vähem mune võrreldes kontrolltaimedega. Munemiseks eelistasid emased pruun-kuldtiivad taimi, mis eristusid kontrolltaimedest lenduvühendite poolest (munadega ja eemaldatud munadega taimed). Liblikamunadega taimed sünteesisid rohkem LOX-rajaga produkte kui munadeta taimed. Selline tulemus annab aluse arvata, et munemistaimede valik tehakse ilmselt just lenduvühendite alusel ja on tõenäoline, et just LOX-rajaga saadused signaaliseerivad liblika jaoks liigikaaslaste munade olemasolu taimel (Coapio et al., 2016; Hansson et al., 1999; Hilker & Fatouros, 2015; Scala et al., 2013). Aklimatiseerumispäeval kõrgemat valmikute asustustihedust kogunud emasliblikad munesid rohkem mune taimedele, kus olid liigikaaslaste munad ja taimedele, kust olid munad eemaldatud.

Magistritöö tulemustest selgub, et ka röövikustaadiumis varjevärvusega liblikaliikidel võib esineda samuti munemiskäitumist, kus eelistatakse liigikaaslastega röövikute toidutaimi. Varem on leitud, et liigikaaslastega taimede eelistamine munemise käigus on eelkõige levinud hoiatusvärvusega liikidel, kes sagedamini munevad munad suurte kogumikena ning kelle vastsed kasvavad seltsingutena (Buteler et al., 2009; Clark & Faeth, 1998; Sillen-Tullberg & Leimar, 1988; Stamp, 1980). Samas ei ole kaitsevärvusega liikidel liigikaaslaste ja agregeerumise mõju nii palju uuritud kui aposemaatilistel liikidel (Sillen-Tullberg & Leimar, 1988). Samuti on varasemates töodes uuritud liblikaliste seast rohkem põllumajanduslikult olulisi kahjurliike (Buteler et al., 2009; Coapio et al., 2016; Hilker & Fatouros, 2015; Leyva et al., 2003; Molnár et al., 2017; Raitanen et al., 2014; Reisenman et al., 2013; Rojas, 1999; Sato et al., 1999; Shiojiri et al., 2010, 2002) kui kultuurtaimi mitte kahjustavaid liblikaid (Singer et al., 2017; Williams & Gilbert, 1981) ning seega ei ole head ülevaadet erinevate elukäigu strateegiaga liikide munemiskäitumisest. Webb ja Pullin (2000) on leidnud, et pruun-kuldtiivaga samasse perekonda kuuluva suur-kuldtiiva alamliigi *L. dispar batavus* munad olid koondunud üksikutele taimedele liblikate elupaigas, mis võib viidata sellele, et samale taimele oli munenud mitu liblikat, aga empiirilist tõestust selle kohta ei esitatud. Et leida, kas pruun-kuldtiiva puhul liigikaaslaste munadega taimede eelistamine esineb ka looduses, tuleks läbi viia täiendav uurimus.

Kuigi valides munemistaimede erinevate taimetööstuste vahel, eelistasid emased pruun-kuldtiivad munemiseks just liigikaaslastega taimi liigikaaslasteta taimedele, muneti teise emase

munadega taimedele vähem mune kui kontrolltaimedele. Suuremas pesakonnas üles kasvanud röövikud olid väiksema nuku- ja valmikukaaluga, mis viitab sellele, et mida rohkem on pesakonnas või ühel taimel koorunud röövikuid, seda väiksem on sealsete üksikisendite edukus (Gripenberg et al., 2010). Röövikute madalam edukus kõrgemal asustustihedusel võib niisiis selgitada, miks emased pruun-kuldtiivad munesid liigikaaslastega taimedele vähem mune (Griese et al., 2020). Viimane järgib *preference-performance* hüpoteesi, mille kohaselt emane liblikas muneb sellisele taimel vähem mune, millel on eeldatav röövikute edukus madalam (Gripenberg et al., 2010). Üks väike oblika taim on suhteliselt väikeste mõõtmetega ning sellest ei jätku ühe pesakonna üles kasvamiseks – röövikute kasvatuskatsekäigus oli vaja toidutaimet vahetada juba siis, kui taimel oli vähemalt neli kuni viis röövikut, kuid ühel taimel toitust rohkem isendeid, keskmiselt 16 röövikut. Seega, kui looduses vastavad kurnasuured laboris nähtule, on röövikutel vaja looduslikus elupaigas aja jooksul hajuda kõrval kasvavatele taimedele, et jätkuks piisavalt toidusubstraati (Bird et al., 2019), mis võib mõnevõrra vähendada emasliblika munemisotsuse mõju järglaste edukusele.

Seega üheks võimalikuks põhjuseks, miks liblikad munesid liigikaaslastega taimedele, võib olla kasu agregeerumisest munastaadiumis või vastkoorunud röövikutel, kelle vahel ei ole veel tekkinud konkurentsi toidusubstraadi pärast. Positiivne mõju võib ilmneda lahjendusefekti kaudu röövlooma ja parasitoidide kaitseks, taimel vastureaktsiooniga toimetulekuks (Fatouros et al., 2012; Hilker & Fatouros, 2015; Jaenike, 1990). Paigutades munad erinevate taimede vahel, kus esineb ka liigikaaslaste munasid, jaotab emane liblikas tõenäosust, et tema järglaste hulgast langeb keegi röövlooma või parasitoidi ohvriks (Fatouros et al., 2012). Kui liblikas muneb kõik munad ühte kohta, siis oleksid kõik tema järglased samades tingimustes ning vaenlase rünnaku järel võib suur osa neist surra (Hopper, 1999). Samas kui muneda väikeste osadena erinevatesse kohtadesse sh liigikaaslastega taimedele (nn. *bet hedging* strateegia), siis vähendab see emasliblika riski, et kõigest või suurest osast tema järglasest saab röövlooma kõhutäis või parasitoidi järglaste kasvukeskkond (Hopper, 1999; Shiojiri & Takabayashi, 2003). Muutuvates keskkonnatingimustes ja eriti tingimustes, mis viitavad suuremale ressursi konkurentstile (kõrgem asustustihedus) saavad eelise isendid, kes suudavad kohaneda uute tingimustega võimalikult kiiresti (Carrasco et al., 2015). Nii on üheks võimalikuks viisiks olla munemisotsuse tegemisel vähem selektiivsem, sest plastilisem käitumine võimaldab kiiremini muutuvate tingimustega kohaneda (Davis et al., 2011). Väiksemate kurnadena ning rohkematesse kohtadesse munedes jaotatakse võimalikke negatiivseid riske ning samas hoitakse ära võimalust, et asustustihedus liiga kõrgeks kasvab (Hopper, 1999).

Teisalt sisaldab väike oblikas suures koguses flavoonglükosiide (Kawasaki et al., 1986), mille omandamiseks on röövikutel vaja neid ühendeid kehaomaseks muuta ehk sekvesteerida (Simmonds, 2003). Sinilibliklaste puhul teatakse, et paljud liigid on kohastunud erinevaid flavonoidseid ühendeid kehaomaseks muutma (Burghardt et al., 2001; Geuder et al., 1997; Mizokami & Yoshitama, 2009; Wiesen et al., 1994), mis toimub ilmselt tänu vastsete sooles elavatele sümbiontsetele bakteritele (Geuder et al., 1997; Hammer & Bowers, 2015; van den Bosch & Welte, 2017). Omastatud flavonoidid suunatakse nukkumise käigus tiibadel paiknevatesse soomustesse, andes tiibadele UV-kiirguse käes nähtava värvimustri, mis on oluline sugulise valiku komponent (Burghardt et al., 2001; Geuder et al., 1997; Knüttel & Fiedler, 2001). Emased, kes suudavad efektiivsemalt flavonoide omastada ning kelle tiibades on seetõttu ka flavonoidühendeid suuremal hulgal (sõltumata kehakaalust), on isastele liblikatele seda atraktiivsemad, mida rohkem flavonoide nende tiivamustris on (Burghardt et al., 2001; Geuder et al., 1997). See võib tuleneda sellest, et kõrgema flavonoide sisaldavate emaste tiivad on isastele paremini nähtavad (Burghardt et al., 2001). Samas sinilibliklaste hulka kuuluva ristikkeina taevastiiva (*Polymmatius icarus*) puhul on teada, et kõrgem flavonoidide sisaldus korreleerus valmikute suurema kehakaalu ning tiivapikkusega ja seega võib olla flavonoidide rohkus emase tiivamustris isasele indikaator emasisendi kohasusest, kuid seda pole veel katseliselt tõestatud (Burghardt et al., 2001).

Kuigi seda ei ole veel uuritud, võib flavonoidide sekvesteerimist pruun-kuldtiiva ja muude flavonoidide rohketest taimedest toituvate putukate puhul hõlbustada see, kui vastkoorunud vastsed toituvad paljukesi ühe taime peal. On leitud, et teised liigikaaslased või samast toidutaimest toituvad teistest liikidest herbivoorid võivad hõlbustada muude taime sekundaarsete metaboliitide sekvesteerimist (Campbell & Stastny, 2015; Fordyce, 2003; Jayanthi et al., 2020), kuid flavonoidide seedumise hõlbustamist ei ole veel uuritud. Kuna arvatakse, et flavonoide aitavad kehaomaseks muuta vastsete sooles leiduvad sümbiontsed bakterid (Geuder et al., 1997), siis võib olla, et vastsed jagavad oma sooles elavaid sümbionte teiste samal taimel toituvate vastsetega ning nii saavad röövikud sekvesteerida kas rohkem eri flavonoidseid ühendeid või omastada neid koguseliselt efektiivsemalt (Hammer & Bowers, 2015; van den Bosch & Welte, 2017). Röövikukatsete käigus ei leidnud me erinevust ei nuku ega valmiku kaalus segakurnas üles kasvanud röövikute ja ühe emase poolt munetud munakurnast üles kasvanud röövikute vahel. Seega munade päritolul ja segakurnas üles kasvanud röövikutel ei olnud eelist võrreldes bioloogiliste õvedega üles kasvanud isenditega. Sümbiontsete mikroorganismide rolli taimede sekundaarsete metaboliitide omastamisel tasub

kindlasti aga edasi uurida, pidades silmas ka võimalust, et eri emaste järglased võivad kanda erinevat mikroobikooslust ja kui see kandub edasi ka järglastele, siis nii võib segakurnas omastatud mitmekesisem sümbiontide kooslus hõlbustada ka metaboliitide sekvesteerimist ja nii järglaste edukust.

Aklimatiseerumispäeval kõrgemat asustustihedust kogenud emasliblikad munesid proportsionaalselt sagedamini võrreldes üksi hoitud liblikatega. Grupis hoitud liblikad munesid rohkem mune munadega ja eemaldatud munadega taimedele, samas kui üksinda hoitud liblikad ei munenud võrreldes kontrolltaimedega ühelegi taimetöötlusele rohkem mune. Teisalt ei munenud grupis hoitud liblikad ühegi teise taimetöötlusele sagedamini võrreldes kontrollrühmaga. Seega munemise eel tajutud populatsioonitihedusel oli mõju munetud munade arvule, aga mitte munemiseelisele. Varasemates uurimustes on leitud, et suuremal populatsioonitihedusel võib munemisselektiivsus langeda (Davis et al., 2011; Mokhtar & Al Nabhani, 2016), mis võib olla üheks seletuseks ka antud katsete tulemustele. Kuna suuremates gruppides üles kasvanud röövikutel oli madalam edukus, siis ei ole järglaste heaolule mõeldes kasulik emasliblikal muneda palju munasid juurde sinna, kus on juba teise emase munakurn ees suurema järglaste vahelisele konkurentsi tõttu (Gripenberg et al., 2010). Siiski tajudes kõrgemat konkurentsi sobilikele munemistaimedele võib munemistaimede selektiivsus langeda ning rohkemate munade munemiseks võivad sobilikuks osutada ka taimed, kellel on juba munad taimedel olemas (Davis et al., 2011; Mokhtar & Al Nabhani, 2016). Vastavalt Allee efektile võib liigikaaslastega taimede aktsepteerimine kõrgel populatsioonitihedusel vähendada vajadust olemasolevast elupaigast välja rännata ning annab suurema tõenäosuse, et isendid leiavad paaritumiseks kaaslase (Singer et al., 2017).

Pruun-kuldtiivad valisid vaatamata taimetöötluste mõjule munemiseks taimi, millel oli suurem lehtede arv ning liblikad munesid rohkem mune taimedele, mis olid kasvult kõrgemad ja millel oli rohkem lehti. Suuremate mõõtmetega taimi võivad liblikad tõenäolisemalt eelistada munemisel nende välimuse järgi ja suurema ressursihulga pärast (Price, 1991). Samas lenduvühendite mõõtmiskatsesest selgus, et mida väiksem oli taimede lehepindala, seda rohkem sünteesisid taimed pikaahelalisi aldehüüde ühe ühiku lehepindala kohta ning seda suurem kaldus olema nende taimede sünteesitud lenduvühendite koguemissioon ja sünteesitud monoterpeenide hulk pindalaühiku kohta sõltumata munade olemasolust. Seega võisid liblikad suurema lehepindalaga taimi valides lähtuda keemilisest signaalist, eelistades väiksema monoterpeenide ja pikaahelaliste aldehüüdide emissiooniga taimi, kes meelitavad taime juurde vähem herbivoori looduslikke vaenlasi (Taveira et al., 2009). Väiksema lehepindalaga taimede

kõrgem lenduvühendite emissioon ühe lehepindala ühiku kohta võib olla seotud nende arenguga, mil nooremad taimed, kellel ei ole veel lehed oma täispindala saavutanud ning kellel ka muud organid ei ole täielikult välja arenenud, toodavad rohkem lenduvühendeid kui vanemad taimed (Dudareva et al., 2004). Samas võisid väiksema lehepindalaga taimed olla võrreldes teiste taimedega aeglasema kasvuga, mis võis olla tingitud eelneva kasvukoha kasvukohatingimustest näiteks kuivusest. Põua ja mõne muu stressi põhjustava olukorra mõjul, mis pärsib taimede kasvu, võivad hakata taimed rohkem herbivooriavastaseid lenduvühendeid tootma, sest herbivoori kahjustuse hind sellises olukorras on palju suurem, kui soodsamates tingimustes kasvades (Takabayashi et al., 1994). Siiski olid katses kasutatud taimed kasvanud laboris samades tingimustes ning võib arvata, et pigem mõjutab väiksema lehepindalaga taimede lenduvühendite tootmist taimede vanus, kuid ei ole välistatud ka enne laborisse toomist kogetud stressi mõju.

Samas kaldusid väike oblika taimed, millel olid pruun-kuldtiiva munad, samuti tootma rohkem monoterpeene ja pikaahelalisi aldehüüde, sõltumata lehtede pindalast. Kuigi LOX-raja produktide kõrgem kontsentratsioon iseloomustas just munadega taimi, siis ei ole ligimeelitavate ühenditena välistatud ka muud lenduvühendid, mida munadega taimed sünteesisid (Bruce & Pickett, 2011; Renwick & Chew, 1994). Pruun-kuldtiiva emasliblikad ei vigastanud munemisel nähtavalt väikese oblika lehestruktuuri ning väikesel oblikal ei tekkinud morfoloogiliselt visuaalset hinnatavat vastureaktsiooni munetud munadele katseperioodi jooksul, mida on leitud varasemalt monofaagsete putukaliikide puhul (Hilker & Fatouros, 2015). Magistritöö käigus leitud lenduvühendite rühmi, mis munadega ja munadeta taimede vahel erinesid, saab edasi analüüsida ordinatsioonimeetoditega, et leida, kas mingite kindlate ühendite vahekord iseloomustab liblika munadega või munadeta taimi (Fatouros et al., 2012).

Putukate ja taimede vaheline põnev maailm, mille laiaulatuslikku ökoloogilist tähendust palja silmaga paljudes aspektides ei näe, selgineb kiht kihi haaval iga uue uurimusega ning üha rohkem saadakse teada kohastumustest, mis on pika evolutsioonilise ajaloo jooksul kinnistunud nii taimede kui ka putukate ökoloogiasse (Bertea et al., 2020; Carrasco et al., 2015; Hilker & Fatouros, 2015; Renwick & Chew, 1994). Siiski on meie arusaamistes veel lüngad selles osas, kuidas täpselt interaktsioonid toimuvad molekulaarsel tasandil, milliseid seaduspärasid leidub veel liigikaaslaste mõjul ning kuidas on seotud selle kõigega teised troofilised tasemed (Bertea et al., 2020; Hilker & Fatouros, 2015). Magistritöö käigus uurisime esimest korda täpsemalt pruun-kuldtiiva ja väikese oblika interaktsioone munemisotsuse tegemisel, kuid mitmed uurimisküsimused ootavad lahendamist. Magistritöö tulemuste põhjal näib, et pruun-kuldtiivad

optimeerivad munemisvalikut tehes röövikute agregeerumisega kaasas käivate kasud ja kahjud nii, et arvestades kõiki võimalikke mõjureid oleksid järglased antud keskkonnatingimustel võimalikult edukad (Fatouros et al., 2012; Shiojiri & Takabayashi, 2003). Edaspidistes uurimustes on oluline täpsemalt välja selgitada, milliseid lenduvaid ühendeid tuvastatud ühendite hulgast võivad liblikad munadega taime asukoha määramisel kasutada – kas need on LOX-raja produktid või ühendid mõnest muust aineklassist, mille liblikad munemisel ära tunnevad ning mis iseloomustavad just munadega taimi? Eeldasime oma töös, et eemaldatud munadega taimel püsib lenduvühendite reaktsioon ka katse jooksul, mis näis nii ka olevat, kuid peaks edasi uurima, kas munadega ja eemaldatud munadega taimede lenduvühendite kompositsioon on omavahel sarnased ning kas see sarnasus püsib ka pikema aja jooksul. Et teada saada, kuidas ja millised mõjurid avaldavad looduslikus keskkonnas mõju munemiskäitumisele ja liigikaaslastega taimede valimisele ning koos liigikaaslastega kasvamisele, tuleks läbi viia täiendav uurimus, kuhu oleks lisaks pruun-kuldtiivale ja väikesele oblikale kaasatud ka teiste troofiliste tasemete liigid (sh parasitoidid, röövloomad, taimede sümbiontsed seened). Lisaks on alles avastamisjärgus sümbiontsete mikroorganismide roll putukate soolestikus, kes aitavad putukatel sekvesteerida taimede metaboliite ning on veel teadmata, kas sel võib olla seos ka liigikaaslastega taimede eelistamisega pruun-kuldtiiva ning teiste liikide puhul.

## 6. Kokkuvõte

Paljud herbivoorsed putukaliigid pakuvad oma järglastele vanemhoolt, munedes oma munad hoolikalt valitud turvalisse ning kvaliteetsesse arenemispaika. Sobiva munemistaime otsing kätkeb endas mitmeid etappe, kus üheks oluliseks osaks on ka märgata teiste organismide kohaolu, sest vastsete edukust võivad oluliselt mõjutada nii teised liigikaaslased, samal toidutaimel arenevad konkurendid kui ka röövloomad ja parasitoidid. Liigikaaslaste munadel ja vastsetel võib olla nii positiivne kui ka negatiivne mõju järeltulevale põlvele ning liigikaaslaste mõju võib erineda ka erinevates keskkonnatingimustes. Samas ei ole palju teavet selle kohta, kuidas mõjutavad liigikaaslased hoiatusvärvuseta ja kultuurtaimi mittekahjustavaid liblikaliike. Lisaks ei ole varasemates liigikaaslaste munade mõju uurivates töödes eristatud visuaalset ja taimede lenduvühenditest tulenevat teavet, mistõttu ei teata täpselt, kas munemist mõjutas muna nägemine või taime sünteesitud lenduvad ühendid.

Pruun-kuldtiiva munemiskäitumise uurimiseks viisime läbi munemiseelistus-katsed väikese oblika taimedega, et leida, kas emasliblikad eelistavad või väldivad liigikaaslaste munadega taimi ning kas munemisotsus tehakse visuaalse või keemilise info põhjal. Leidsime, et pruun-kuldtiivad valisid munemiseks taimed, millel olid liigikaaslaste mune signaliseerivad tunnused (munadega taimed ja taimed, millelt oli eemaldatud liblika munad, kuid kus olid tõenäoliselt säilinud herbivoor-indutseeritud lenduvühendid), kuid juurde munetud munade arv oli liigikaaslaste munadega taimedel väiksem. Ilmselt optimeerivad pruun-kuldtiivad munemisvalikut tehes röövikute agregeerumisega kaasas käivad kasud ja kahjud nii, et arvestades kõiki võimalikke mõjureid oleksid järglased nendes keskkonnatingimustes võimalikult edukad. Väiksemate kurnadena ning rohkematesse kohtadesse munedes jaotatakse võimalikke negatiivseid mõjusid järglastele ning nii hoitakse ära ka asustustiheduse liiga kõrgeks kasvamine.

Munemisotsuse tegemisel oli keemilisel signaalil visuaalsest olulisem roll. Munadega ja munadeta väikese oblika taimed eristusid lenduvühendite poolest – munadega taimede lenduvühendite emissioon lehepindala ühiku kohta oli munadeta kontrolltaimedest oluliselt kõrgem. Munadega taimed sünteesisid ühe pindalaühiku kohta rohkem lipoksügenaasi raja produkte võrreldes kontrolltaimedega. Samuti kaldusid väiksema lehepindalaga taimed ning ka munadega taimed tootma rohkem monoterpeene ja pikaahelalisi aldehüüde. Sellised tulemused annavad aluse arvata, et pruun-kuldtiivad valivad munemistaime eeskätt taime toodetud lenduvühendite põhjal ja on tõenäoline, et lipoksügenaasi raja saadused signaliseerivad liblika jaoks liigikaaslaste munade olemasolu taimel.

Valmikute kõrgem asustustihedus aklimatiseerumispäeval pani liblikad rohkem mune munema taimedele, kus olid liigikaaslaste munad ja taimedele, kust olid munad eemaldatud, mis viitab valmikute vähenenud munemisselektiivsusele. Erinevate emaste poolt munetud pesakondades üles kasvanud isendite edukus ei erinenud ühe emase poolt munetud pesakonna isendite edukusest. Madalam munemiskoha selektiivsus kõrgemal asustustihedusel on tõenäoliselt kohastumus, mis tagab järglaste suurema edukuse vähem soodsates oludes, kuid sellel on ka oma hind, milleks pruun-kuldtiiva puhul osutus väiksem kehakaal suure asustustiheduse juures kasvades.

Kokkuvõtvalt järeldub magistritöö tulemustest, et teiste liigikaaslastega koos kasvamisel võib ka varjevärvusega vastsetega liikidel esineda positiivne mõju. Tõenäoliselt arvestab emane liblikas munemisel järglastele mõjuvaid kasusid ja kahjusid ning teeb nende põhjal munemisotsuse, mis suurendab järglaste edukust konkreetsetes keskkonnatingimustes.

## 7. Summary

### **The effects of conspecifics on oviposition behaviour in Sooty Copper (*Lycaena tityrus*)**

A number of herbivorous insects provide parental care for their offspring by looking for secure and high quality substrates for oviposition. The oviposition site selection consists of numerous aspects. Among them it is important to observe the presence of other organisms, because the performance of the progeny could be significantly altered by the conspecifics, other species of herbivores feeding on the same plant, as well as predators and parasitoids. Conspecific eggs and larvae can influence the offspring either positively or negatively, and the impact can vary under different environmental conditions. Whether the conspecifics alter also cryptic and non-pest Lepidopteran species is not yet thoroughly studied. Furthermore, in the previous studies exploring the impact of conspecifics on oviposition behaviour, the visual and chemical cues in determining the conspecifics were not explicitly distinguished. In consequence it has remained largely unclear whether the oviposition site selection is made based on seeing the conspecific eggs or via smelling the induced plant volatiles.

We conducted oviposition preference experiments with the sooty copper (*Lycaena tityrus*) butterflies on sheep sorrel (*Rumex acetosella*) plants to test whether the females are attracted or deterred by the conspecific eggs and whether the oviposition site selection is based on rather visual or chemical cues. We found that *L. tityrus* females prefer to oviposit on plants which had conspecific cues (plants with conspecific eggs and plants where before the experiment the eggs were removed, but where the volatiles probably remained). However, the number of eggs laid were lower on plants with conspecifics compared with control plants. During oviposition site selection the females of *L. tityrus* probably optimise the possible benefits and risks caused by egg and larval aggregation and consider all the possible factors affecting the offspring to ensure that the offspring could have the best performance in a particular environment. Females spread the potential risks by laying their eggs in smaller patches and in different locations, and by doing so also avoid very high population densities.

As the females preferred to oviposit on the plants containing the chemical cues, we conclude that the chemical cues had a more important role than the visual cues for the female *L. tityrus* in discriminating conspecifics before the oviposition. Indeed, plants with *L. tityrus* eggs emitted significantly more volatile compounds per leaf area than plants without the eggs. In particular, plants with the butterfly eggs synthesised more compounds belonging to the lipoxygenase pathway compared to control plants without eggs. Also, plants with smaller leaf area and plants with the butterfly eggs were more prone to emit monoterpenes and long-chain

aldehydes. Based on these results, it may be assumed that the oviposition site selection is probably mainly based on the volatile compounds in the focal species and the products from the lipoxygenase pathway are likely to signalise the conspecific eggs on the plants.

Butterflies who experienced higher population density on the acclimatisation day laid more eggs on plants with the conspecific eggs and plants where the eggs were removed. This refers to the decline of selectivity in oviposition site selection. The performance of individuals who developed in mixed clutches, where the eggs were laid by two or more females, did not differ from the clutches laid by one female. Lower selectivity in higher population densities is likely an adaptation which helps females to increase the performance of progeny in unfavorable environmental conditions. However, this changed behaviour also has costs and in *L. tityrus* these costs are at least partly associated with decreased body weights at high rearing densities.

In conclusion, there is likely to be a positive effect of conspecifics also for species with cryptic larvae. Probably the females consider the benefits and risks caused by conspecifics and during the oviposition site selection they choose the oviposition strategy that increases the performance of their progeny in a particular environment.

## Tänuavaldused

Olen ääretult tänulik oma juhendajale Toomas Esperkile toetava juhendamise eest kogu magistr töö projekti jooksul ning edasiviivalt nõudlike kommentaaride eest töö koostamisel. Tänan oma teist juhendajat Triinu Rimmelit juhendamise ja abistamise eest taimede lenduvühendite katsetega seoses ning sisukate kommentaaride eest töö koostamisel. Tänan väga ka Ants Kaasikut, kelle abiga sain andmed õigete meetoditega analüüsitud ning kes oli igati valmis alati tekkinud küsimustele vastama. Lisaks tänan Toomas Tammaru, kes juhtis mind selle töö teemani ning kelle abi magistr töö projekti jooksul on olnud tänu väärt. Veel tänan kõiki abilisi, kes aitasid munemiskatseid läbi viia: Liisi Pley, Kerli Kuusk, Britta Kalgan, Merili Martverk ning oma pere, kes elas pidevalt lõputöö kirjutamisele kaasa.

## Kasutatud allikad

- Agrawal, A. A., Lau, J. A., & Hamba, P. A. (2012). *Community heterogeneity and the evolution of interactions between plants and insect herbivores*. *81*(4), 349–376.
- Allmann, S., & Baldwin, I. T. (2010). Insects betray themselves in nature to predators by rapid isomerization of green leaf volatiles. *Science*, *329*(5995), 1075–1078. <https://doi.org/10.1126/science.1191634>
- Allmann, S., Späthe, A., Bisch-Knaden, S., Kallenbach, M., Reinecke, A., Sachse, S., Baldwin, I. T., & Hansson, B. S. (2013). Feeding-induced rearrangement of green leaf volatiles reduces moth oviposition. *ELife*, *2013*(2). <https://doi.org/10.7554/eLife.00421>
- Baldwin, I. T. (2010). Plant volatiles. In *Current Biology* (Vol. 20, Issue 9, pp. R392–R397). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.052>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. M., & Walker, S. C. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, *67*(1), 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Béguinot, J. (1976). Would Mothers Relax Their Degree of Selectivity for Supports Suitable for Egg-Laying When the Local Density of Conspecific Females Increases? A Case Study with Three Common Lepidopteran Leaf Miners. *Article ID*, *2012*. <https://doi.org/10.5402/2012/197615>
- Bertea, C. M., Casacci, L. Pietro, Bonelli, S., Zampollo, A., & Barbero, F. (2020). Chemical, Physiological and Molecular Responses of Host Plants to Lepidopteran Egg-Laying. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 1768. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01768>
- Bird, G., Kaczvinsky, C., Wilson, A. E., & Hardy, N. B. (2019). When do herbivorous insects compete? A phylogenetic meta-analysis. In *Ecology Letters* (Vol. 22, Issue 5, pp. 875–883). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ele.13245>
- Björkman, C., Larsson, S., Bommarco, R., & Bjorkman, C. (1997). Oviposition Preferences in Pine Sawflies: A Trade-Off between Larval Growth and Defence against Natural Enemies. *Oikos*, *79*(1), 45. <https://doi.org/10.2307/3546088>
- Bolker, B. (2021). *GLMM FAQ*. <https://bbolker.github.io/mixedmodels-misc/glmmFAQ.html>
- Bozoudi, D., Parisi, Z., Caputo, A. R., Claps, S., S. Belibasaki, & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2011). *Variation in volatile profile of plants grazed by sheep and the produced milk at two different areas of mountainous Greece*.
- Bruce, T. J. A., Midega, C. A. O., Birkett, M. A., Pickett, J. A., & Khan, Z. R. (2010). Is quality

- more important than quantity? Insect behavioural responses to changes in a volatile blend after stemborer oviposition on an African grass. *Biology Letters*, 6(3), 314–317. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0953>
- Bruce, T. J. A., & Pickett, J. A. (2011). Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - Finding the right mix. In *Phytochemistry* (Vol. 72, Issue 13, pp. 1605–1611). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.011>
- Buchanan, A. L., Hermann, S. L., Lund, M., & Szendrei, Z. (2017). A meta-analysis of non-consumptive predator effects in arthropods: the influence of organismal and environmental characteristics. *Oikos*, 126(9), 1233–1240. <https://doi.org/10.1111/oik.04384>
- Burghardt, F., Proksch, P., & Fiedler, K. (2001). Flavonoid sequestration by the common blue butterfly *Polyommatus icarus*: Quantitative intraspecific variation in relation to larval hostplant, sex and body size. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(9), 875–889. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(01\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(01)00036-9)
- Buteler, M., Weaver, D. K., & Peterson, R. K. D. (2009). Oviposition behavior of the wheat stem sawfly when encountering plants infested with cryptic conspecifics. *Environmental Entomology*, 38(6), 1707–1715. <https://doi.org/10.1603/022.038.0624>
- Campbell, S. A., & Stastny, M. (2015). Benefits of gregarious feeding by aposematic caterpillars depend on group age structure. *Oecologia*, 177(3), 715–721. <https://doi.org/10.1007/s00442-014-3141-1>
- Carrasco, D., Larsson, M. C., & Anderson, P. (2015). Insect host plant selection in complex environments. In *Current Opinion in Insect Science* (Vol. 8, pp. 1–7). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.01.014>
- Chen, M. S. (2008). Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science*, 15(2), 101–114. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2008.00190.x>
- Cheng, A. X., Lou, Y. G., Mao, Y. B., Lu, S., Wang, L. J., & Chen, X. Y. (2007). Plant terpenoids: Biosynthesis and ecological functions. In *Journal of Integrative Plant Biology* (Vol. 49, Issue 2, pp. 179–186). <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00395.x>
- Clark, B. R., & Faeth, S. H. (1997). The consequences of larval aggregation in the butterfly *Chlosyne lacinia*. *Ecological Entomology*, 22(4), 408–415. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.1997.00091.x>
- Clark, B. R., & Faeth, S. H. (1998). The evolution of egg clustering in butterflies: A test of the egg desiccation hypothesis. *Evolutionary Ecology*, 12(5), 543–552. <https://doi.org/10.1023/A:1006504725592>

- Coapio, G. G., Cruz-López, L., Guerenstein, P., Malo, E. A., & Rojas, J. C. (2016). Herbivore damage and prior egg deposition on host plants influence the oviposition of the generalist moth *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, *109*(6), 2364–2372. <https://doi.org/10.1093/jee/tow198>
- Copolovici, L., Pag, A., Kännaste, A., Bodescu, A., Tomescu, D., Copolovici, D., Soran, M. L., & Niinemets, Ü. (2017). Disproportionate photosynthetic decline and inverse relationship between constitutive and induced volatile emissions upon feeding of *Quercus robur* leaves by large larvae of gypsy moth (*Lymantria dispar*). *Environmental and Experimental Botany*, *138*, 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.03.014>
- Courtney, S. P., & Kibota, T. T. (1990). Mother doesn't know best: Selection of hosts by ovipositing insects. In E. A. Bernays (Ed.), *Insect-Plant Interactions* (2nd ed., pp. 161–188). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203711736>
- Cunningham, J. P., West, S. A., & Zalucki, M. P. (2001). Host selection in phytophagous Insects: A new explanation for learning in adults. In *Oikos* (Vol. 95, Issue 3, pp. 537–543). <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2001.950319.x>
- Davis, J. M., Nufio, C. R., & Papaj, D. R. (2011). Resource quality or competition: Why increase resource acceptance in the presence of conspecifics? *Behavioral Ecology*, *22*(4), 730–737. <https://doi.org/10.1093/beheco/arr042>
- De Moraes, C. M., Mescher, M. C., & Tumlinson, J. H. (2001). Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. *Nature*, *410*(6828), 577–579. <https://doi.org/10.1038/35069058>
- Desurmont, G. A., & Weston, P. A. (2011). Aggregative oviposition of a phytophagous beetle overcomes egg-crushing plant defences. *Ecological Entomology*, *36*(3), 335–343. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2011.01277.x>
- Dicke, M., & Baldwin, I. T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the “cry for help.” In *Trends in Plant Science* (Vol. 15, Issue 3, pp. 167–175). Trends Plant Sci. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.12.002>
- Donahue, M. J. (2006). Allee effects and conspecific cueing jointly lead to conspecific attraction. *Oecologia*, *149*, 33–43. <https://doi.org/10.1007/s00442>
- Dudareva, N., Pichersky, E., & Gershenzon, J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. In *Plant Physiology* (Vol. 135, Issue 4, pp. 1893–1902). American Society of Plant Biologists. <https://doi.org/10.1104/pp.104.049981>
- Erb, M., & Reymond, P. (2019). Molecular Interactions between Plants and Insect Herbivores.

- In *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 70, pp. 527–557). Annual Reviews Inc.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-095910>
- Fatouros, N. E., Lucas-Barbosa, D., Weldegergis, B. T., Pashalidou, F. G., van Loon, J. J. A., Dicke, M., Harvey, J. A., Gols, R., & Huigens, M. E. (2012). Plant volatiles induced by herbivore egg deposition affect insects of different trophic levels. *PLoS ONE*, 7(8), 43607. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043607>
- Fernández, P. C., Braccini, C. L., Dávila, C., Barrozo, R. B., Aráoz, M. V. C., Cerrillo, T., Gershenzon, J., Reichelt, M., & Zavala, J. A. (2019). The use of Leaf Surface Contact Cues During Oviposition Explains Field Preferences in the Willow Sawfly *Nematus Oligospilus*. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41318-7>
- Fiedler, K. (1989). Differences in the behaviour of ants towards two larval instars of *Lycaena tityrus* (Lep., Lycaenidae). *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 36(4–5), 267–271. <https://doi.org/10.1002/mmnd.19890360406>
- Finch, S., & Collier, R. H. (2000). Host-plant selection by insects - a theory based on “appropriate/inappropriate landings” by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(2), 91–102. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2000.00684.x>
- Fini, A., Brunetti, C., Loreto, F., Centritto, M., Ferrini, F., & Tattini, M. (2017). Isoprene Responses and Functions in Plants Challenged by Environmental Pressures Associated to Climate Change. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1281. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2017.01281>
- Fischer, K., & Fiedler, K. (2000). Response of the copper butterfly *Lycaena tityrus* to increased leaf nitrogen in natural food plants: evidence against the nitrogen limitation hypothesis. *Oecologia*, 124(2), 235–241. <https://doi.org/10.1007/s004420000365>
- Fleischer, J., Pregitzer, P., Breer, H., & Krieger, J. (2018). Access to the odor world: olfactory receptors and their role for signal transduction in insects. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 75, Issue 3, pp. 485–508). Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2627-5>
- Fordyce, J. A. (2003). Aggregative feeding of pipevine swallowtail larvae enhances hostplant suitability. *Oecologia*, 135(2), 250–257. <https://doi.org/10.1007/s00442-003-1177-8>
- Freese, A., Benes, J., Bolz, R., Cizek, O., Dolek, M., Geyer, A., Gros, P., Konvicka, M., Liegl, A., & Stettmer, C. (2006). Habitat use of the endangered butterfly *Euphydryas maturna* and forestry in Central Europe. *Animal Conservation*, 9(4), 388–397.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2006.00045.x>

- Geuder, M., Wray, V., Fiedler, K., & Proksch, P. (1997). Sequestration and metabolism of host-plant flavonoids by the Lycaenid butterfly *Polyommatus bellargus*. *Journal of Chemical Ecology*, 23(5), 1361–1372. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006469.00557.69>
- Griese, E., Pineda, A., Pashalidou, F. G., Iradi, E. P., Hilker, M., Dicke, M., & Fatouros, N. E. (2020). Plant responses to butterfly oviposition partly explain preference–performance relationships on different brassicaceous species. *Oecologia*, 192(2), 463–475. <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04590-y>
- Gripenberg, S., Mayhew, P. J., Parnell, M., & Roslin, T. (2010). A meta-analysis of preference–performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters*, 13(3), 383–393. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01433.x>
- Hammer, T. J., & Bowers, M. D. (2015). Gut microbes may facilitate insect herbivory of chemically defended plants. *Oecologia*, 179(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3327-1>
- Hammer, T. J., Janzen, D. H., Hallwachs, W., Jaffe, S. P., & Fierer, N. (2017). Caterpillars lack a resident gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(36), 9641–9646. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707186114>
- Hansson, B. S., Larsson, M. C., & Leal, W. S. (1999). Green leaf volatile-detecting olfactory receptor neurones display very high sensitivity and specificity in a scarab beetle. *Physiological Entomology*, 24(2), 121–126. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.1999.00121.x>
- Hilker, M., & Fatouros, N. E. (2015). Plant responses to insect egg deposition. In *Annual Review of Entomology* (Vol. 60, pp. 493–515). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-020620>
- Hintikka, V. (1990). Germination ecology and survival strategy of *Rumex acetosella* (Polygonaceae) on drought-exposed rock outcrops in South Finland. *Annales Botanici Fennici*, 27(3), 205–215. <http://www.jstor.org/stable/23725358>
- Hopper, K. R. (1999). Risk-spreading and bet-hedging in insect population biology. In *Annual Review of Entomology* (Vol. 44, pp. 535–560). Annu Rev Entomol. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.535>
- Hufnagel, M., Schillmiller, A. L., Ali, J., & Szendrei, Z. (2017). Choosy mothers pick challenging plants: maternal preference and larval performance of a specialist herbivore are not linked. *Ecological Entomology*, 42(1), 33–41. <https://doi.org/10.1111/een.12350>

- Isono, K., & Morita, H. (2010). Molecular and cellular designs of insect taste receptor system. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 4, 1–43. <https://doi.org/10.3389/fncel.2010.00020>
- Jaenike, J. (1978). On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology*, 14(3), 350–356. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(78\)90012-6](https://doi.org/10.1016/0040-5809(78)90012-6)
- Jaenike, J. (1990). Host Specialization in Phytophagous Insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 243–273.
- Jaumann, S., & Snell-Rood, E. C. (2016). Trade-offs between fecundity and choosiness in ovipositing butterflies. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2016.11.011>
- Jaumann, S., & Snell-Rood, E. C. (2019). Adult nutritional stress decreases oviposition choosiness and fecundity in female butterflies. *Behavioral Ecology*, 30(3), 852–863. <https://doi.org/10.1093/beheco/arz022>
- Javoš, J., Tammaru, T., & Käär, M. (2005). Oviposition in an eruptive moth species, *Yponomeuta evonymellus*, is insensitive to the population density experienced during the larval period. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(3), 379–386. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2005.00265.x>
- Jayanthi, P. D. K., Kempraj, V., & Ravindra, M. A. (2020). Lepidopteran webber, *Orthaga exvinacea* oviposits amidst conspecific colonies: A social facilitation gone unnoticed. *Current Science*, 119(5), 823–830. <https://doi.org/10.18520/cs/v119/i5/823-830>
- Kawasaki, M., Kanomata, T., & Yoshitama, K. (1986). Flavonoids in the leaves of twenty-eight polygonaceous plants. *The Botanical Magazine Tokyo*, 99(1), 63–74. <https://doi.org/10.1007/BF02488623>
- Kessler, A., & Baldwin, I. T. (2001). Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science*, 291(5511), 2141–2144. <https://doi.org/10.1126/science.291.5511.2141>
- Knüttel, H., & Fiedler, K. (2001). Host-plant-derived variation in ultraviolet wing patterns influences mate selection by male butterflies. *Journal of Experimental Biology*, 204(14), 2447–2459. <https://doi.org/10.1242/jeb.204.14.2447>
- Koricheva, J., Gange, A. C., & Jones, T. (2009). Effects of mycorrhizal fungi on insect herbivores: A meta-analysis. *Ecology*, 90(8), 2088–2097. <https://doi.org/10.1890/08-1555.1>
- Kostal, V., & Finch, S. (1994). Influence of background on host-plant selection and subsequent oviposition by the cabbage root fly (*Delia radicum*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 70(2), 153–163. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1994.tb00743.x>

- Krall, H., Kukk, T., Kull, T., Kuusk, V., Leht, M., Oja, T., Pihu, S., Reier, Ü., Zingel, H., & Tuulik, T. (2010). *Eesti taimede määraja* (M. Leht (ed.); 3rd ed.). Kirjastus Eesti Loodusfoto.
- Kwadha, C. A., Mutunga, J. M., Irungu, J., Ongamo, G., Ndegwa, P., Raina, S., & Fombong, A. T. (2019). Decanal as a major component of larval aggregation pheromone of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Journal of Applied Entomology*, *143*(4), 417–429. <https://doi.org/10.1111/jen.12617>
- Lancaster, J., Downes, B. J., & Arnold, A. (2010). Oviposition site selectivity of some stream-dwelling caddisflies. *Hydrobiologia*, *652*(1), 165–178. <https://doi.org/10.1007/s10750-010-0328-2>
- Laothawornkitkul, J., Paul, N. D., Vickers, C. E., Possell, M., Taylor, J. E., Mullineaux, P. M., & Hewitt, C. N. (2008). Isoprene emissions influence herbivore feeding decisions. *Plant, Cell and Environment*, *31*(10), 1410–1415. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01849.x>
- Lawrence, W. S. (1990). The effects of group size and host species on development and survivorship of a gregarious caterpillar *Halisidota caryae* (Lepidoptera: Arctiidae). *Ecological Entomology*, *15*(1), 53–62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1990.tb00783.x>
- Leyva, K. J., Clancy, K. M., & Price, P. W. (2003). Oviposition strategies employed by the western spruce budworm: Tests of predictions from the phylogenetic constraints hypothesis. *Agricultural and Forest Entomology*, *5*(1), 9–16. <https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2003.00157.x>
- Li, Q., & Liberles, S. D. (2015). Aversion and attraction through olfaction. In *Current Biology* (Vol. 25, Issue 3, pp. R120–R129). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.11.044>
- Lima, S. L. (1998). Nonlethal Effects in the Ecology of Predator-Prey Interactions. *BioScience*, *48*(1), 25–34. <https://doi.org/10.2307/1313225>
- Loivamäki, M., Mumm, R., Dicke, M., & Schnitzler, J. P. (2008). Isoprene interferes with the attraction of bodyguards by herbaceous plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(45), 17430–17435. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804488105>
- Martin, L. A., & Pullin, A. S. (2004). Host-plant specialisation and habitat restriction in an endangered insect, *Lycaena dispar batavus* (Lepidoptera: Lycaenidae) I. Larval feeding and oviposition preferences. *J. Entomol*, *101*, 51–56.

- Martins, R. F. R. (2011). *On the evolutionary history of the iberian Sooty Copper butterflies*. University of Lisboa.
- Miller, S. W., Schroer, M., Fleri, J. R., & Kennedy, T. A. (2020). Macroinvertebrate oviposition habitat selectivity and egg-mass desiccation tolerances: Implications for population dynamics in large regulated rivers. *Freshwater Science*, 39(3), 584–599. <https://doi.org/10.1086/710237>
- Mizokami, H., & Yoshitama, K. (2009). Sequestration and metabolism of host-plant flavonoids by the Pale Grass Blue, *Pseudozizeeria maha* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Entomological Science*, 12(2), 171–176. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8298.2009.00322.x>
- Mokhtar, A. M., & Al Nabhani, S. S. (2016). Distribution of *Virachola livia* (Lepidoptera: Lycaenidae) Eggs and Influence of Conspecific Aggregation and Avoidance Behavior. In *J. Agr. Sci. Tech* (Vol. 18).
- Molnár, B. P., Tóth, Z., & Kárpáti, Z. (2017). Synthetic blend of larval frass volatiles repel oviposition in the invasive box tree moth, *Cydalima perspectalis*. *Journal of Pest Science*, 90(3), 873–885. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0837-0>
- Mrazova, A., Sam, K., & Amo, L. (2019). What do we know about birds' use of plant volatile cues in tritrophic interactions? In *Current Opinion in Insect Science* (Vol. 32, pp. 131–136). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.02.004>
- Mugrabi-Oliveira, E., & Moreira, G. R. . (1996). Conspecific mimics and low host plant availability reduce egg laying by *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 13(4), 929–937. <https://doi.org/10.1590/s0101-81751996000400014>
- Õunap, E., & Tartes, U. (2014). *Eesti päevaliblikad*. Kirjastus Varrak.
- Parnesan, C., Ryrholm, N., Stefanescu, C., Hill, J. K., Thomas, C. D., Descimon, H., Huntley, B., Kaila, L., Kullberg, J., Tammaru, T., Tennent, W. J., Thomas, J. A., & Warren, M. (1999). Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*, 399(6736), 579–583. <https://doi.org/10.1038/21181>
- Pophof, B., Stange, G., & Abrell, L. (2005). Volatile organic compounds as signals in a plant-herbivore system: Electrophysiological responses in olfactory sensilla of the moth *Cactoblastis cactorum*. *Chemical Senses*, 30(1), 51–68. <https://doi.org/10.1093/chemse/bji001>
- Pradel, K., Pradel, K., & Fischer, K. (Kathrin\_Pradel@web D. (2011). Living on the edge: Habitat and host-plant selection in the butterfly *Lycaena tityrus* (Lepidoptera: Lycaenidae)

- close to its northern range limit. *The Journal of Research on the Lepidoptera.*, 44, 35–41.  
<https://www.biodiversitylibrary.org/part/266493>
- Price, P. W. (1991). The Plant Vigor Hypothesis and Herbivore Attack. *Oikos*, 62(2), 244.  
<https://doi.org/10.2307/3545270>
- Putwain, P. D. (1970). The population dynamics of *Rumex acetosa* L. and *Rumex acetosella* L. *Proceedings 10th Brit. Weed Control Conf.*, 12–19.
- Putwain, P. D., Machin, D., & Harper, J. L. (1968). Studies in the Dynamics of Plant Populations: II. Components and Regulation of a Natural Population of *Rumex Acetosella* L. *The Journal of Ecology*, 56(2), 421. <https://doi.org/10.2307/2258242>
- R Core Team. (2020). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
- Raitanen, J., Forsman, J. T., Kivelä, S. M., Mäenpää, M. I., & Välimäki, P. (2014). Attraction to conspecific eggs may guide oviposition site selection in a solitary insect. *Behavioral Ecology*, 25(1), 110–116. <https://doi.org/10.1093/beheco/art092>
- Refsnider, J. M., & Janzen, F. J. (2010). Putting Eggs in One Basket: Ecological and Evolutionary Hypotheses for Variation in Oviposition-Site Choice. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 41, 39–57. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102209-144712>
- Reim, E., Arnstedt, I., Barwisch, I., Baumgarten, M., Bock, S., Eberspach, J., Ellerbrok, J., Gebremeskel, M., Küpper, S., Guth, L., Lassen, A., Letro, L., Meth, R., Möller, M., Närmann, F., Neunaber, I., Seliger, A., Stein, W. v., Vallinga, C., ... Fischer, K. (2018). Movement Patterns Differ between Sexes and Depend on Weather Conditions in the Butterfly *Lycaena tityrus*. *Journal of Insect Behavior*, 31(3), 309–320. <https://doi.org/10.1007/s10905-018-9679-8>
- Reisenman, C. E., Riffell, J. A., Duffy, K., Pesque, A., Mikles, D., & Goodwin, B. (2013). Species-Specific Effects of Herbivory on the Oviposition Behavior of the Moth *Manduca sexta*. *Journal of Chemical Ecology*, 39(1), 76–89. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0228-1>
- Renwick, J. A. ., & Chew, F. . (1994). Oviposition Behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 39, 377–400.
- Reyes-Prado, H., Jiménez-Pérez, A., Arzuffi, R., & Robledo, N. (2020). *Copitarsia decolora* Guenée (Lepidoptera: noctuidae) females avoid larvae competition by detecting larvae damaged plants. *Scientific Reports*, 10(5633). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62365->

- Reymond, P., & Farmer, E. E. (1998). Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. *Current Opinion in Plant Biology*, 1(5), 404–411. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(98\)80264-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(98)80264-1)
- Rojas, J. C. (1999). Influence of host plant damage on the host-finding behavior of *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 28(4), 588–593. <https://doi.org/10.1093/ee/28.4.588>
- Sabuncu, M., Konak, M., & Şahan, Y. (2019). The bioaccessible antioxidant properties of *Rumex acetosella* L. *Bursa Uludag Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(2), 197–207. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/866434>
- Sato, Y., Yano, S., Takabayashi, J., & Ohsaki, N. (1999). *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) females avoid oviposition on *Rorippa indica* plants infested by conspecific larvae. *Applied Entomology and Zoology*, 34(3), 333–337. <https://doi.org/10.1303/aez.34.333>
- Scala, A., Allmann, S., Mirabella, R., Haring, M. A., & Schuurink, R. C. (2013). Green leaf volatiles: A plant’s multifunctional weapon against herbivores and pathogens. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 14, Issue 9, pp. 17781–17811). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms140917781>
- Schuman, M. C., & Baldwin, I. T. (2016). *The Layers of Plant Responses to Insect Herbivores*. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023851>
- Shapiro, A. M., & DeVay, J. E. (1987). Hypersensitivity reaction of *Brassica nigra* L. (Cruciferae) kills eggs of *Pieris* butterflies (Lepidoptera: Pieridae). *Oecologia*, 71(4), 631–632. <https://doi.org/10.1007/BF00379310>
- Shiojiri, K., Ozawa, R., Kugimiya, S., Uefune, M., Van Wijk, M., Sabelis, M. W., & Takabayashi, J. (2010). Herbivore-specific, density-dependent induction of plant volatiles: Honest or “Cry Wolf” signals? *PLoS ONE*, 5(8), 12161. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012161>
- Shiojiri, K., & Takabayashi, J. (2003). Effects of specialist parasitoids on oviposition preference of phytophagous insects: Encounter-dilution effects in a tritrophic interaction. *Ecological Entomology*, 28(5), 573–578. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2003.00539.x>
- Shiojiri, K., Takabayashi, J., Yano, S., & Takafuji, A. (2002). Oviposition preferences of herbivores are affected by tritrophic interaction webs. *Ecology Letters*, 5(2), 186–192. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2002.00292.x>

- Sillen-Tullberg, B., & Leimar, O. (1988). The Evolution of Gregariousness in Distasteful Insects as a Defense Against Predators. In *Source: The American Naturalist* (Vol. 132, Issue 5).
- Simmonds, M. S. J. (2003). Flavonoid-insect interactions: Recent advances in our knowledge. In *Phytochemistry* (Vol. 64, Issue 1, pp. 21–30). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00293-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00293-0)
- Singer, M. C. (2003). Oviposition preference: its definition, measurement and correlates, and its use in assessing risk of host shifts. *Proceedings of the International Symposium on Biological Control of Weeds*, 235–244.
- Singer, M. C., Kuussaari, M., & Nouhuys, S. Van. (2017). Attraction of melitaea cinxia butterflies to previously-attacked hosts: A likely complement to known allee effects? *Annales Zoologici Fennici*, 54(1–4), 205–211. <https://doi.org/10.5735/086.054.0118>
- Sokame, B. M., Ntiri, E. S., Ahuya, P., Torto, B., Le Ru, B. P., Kilalo, D. C., Juma, G., & Calatayud, P. A. (2019). Caterpillar-induced plant volatiles attract conspecific and heterospecific adults for oviposition within a community of lepidopteran stemborers on maize plant. *Chemoecology*, 29(3), 89–101. <https://doi.org/10.1007/s00049-019-00279-z>
- Soler, R., Badenes-Pérez, F. R., Broekgaarden, C., Zheng, S. J., David, A., Boland, W., & Dicke, M. (2012). Plant-mediated facilitation between a leaf-feeding and a phloem-feeding insect in a brassicaceous plant: From insect performance to gene transcription. *Functional Ecology*, 26(1), 156–166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01902.x>
- Soler, R., Pineda, A., Li, Y., Ponzio, C., van Loon, J. J. A., Weldegergis, B. T., & Dicke, M. (2012). Neonates know better than their mothers when selecting a host plant. *Oikos*, 121(12), 1923–1934. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20415.x>
- Stamp, N. E. (1980). Egg Deposition Patterns in Butterflies: Why Do Some Species Cluster Their Eggs Rather Than Deposit Them Singly? In *Source: The American Naturalist* (Vol. 115, Issue 3). <https://www.jstor.org/stable/2460724>
- Stephens, P. A., Sutherland, W. J., & Freckleton, R. P. (1999). What Is the Allee Effect? *Oikos*, 87(1), 185. <https://doi.org/10.2307/3547011>
- Takabayashi, J., Dicke, M., & Posthumus, M. A. (1994). Volatile herbivore-induced terpenoids in plant-mite interactions: Variation caused by biotic and abiotic factors. *Journal of Chemical Ecology*, 20(6), 1329–1354. <https://doi.org/10.1007/BF02059811>
- Tanmaru, T., Kaitaniemi, P., Ruohomäki, K., & Ruohomaki, K. (1995). Oviposition Choices of *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae) in Relation to Its Eruptive Population

- Dynamics. *Oikos*, 74(2), 296. <https://doi.org/10.2307/3545659>
- Tammiste, L. (2019). *Liigikaaslaste mõju liblikaliste munemiskäitumisele*. Tartu Ülikool, Bakalaureusetöö.
- Taveira, M., Guedes de Pinho, P., Gonçalves, R. F., Andrade, P. B., & Valentão, P. (2009). Determination of eighty-one volatile organic compounds in dietary *Rumex induratus* leaves by GC/IT-MS, using different extractive techniques. *Microchemical Journal*, 93(1), 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.04.008>
- Thompson, J. N., & Pellmyr, O. (1991). Evolution of oviposition behavior and host preference in lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 36(1), 65–89. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.36.010191.000433>
- Tiitsaar, A., Kaasik, A., Lindman, L., Staneviš, T., & Tammaru, T. (2016). Host associations of *Coenonympha hero* (Lepidoptera: Nymphalidae) in northern Europe: microhabitat rather than plant species. *Journal of Insect Conservation*, 20(2), 265–275. <https://doi.org/10.1007/s10841-016-9861-2>
- Tiitsaar, A., Valdma, D., Õunap, E., Remm, J., Teder, T., & Tammaru, T. (2019). Distribution of Butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea) in Estonia: Results of a Systematic Mapping Project Reveal Long-Term Trends. *Annales Zoologici Fennici*, 56(1–6), 147. <https://doi.org/10.5735/086.056.0114>
- Tolman, T., & Lewington, R. (2008). *Collins Butterfly Guide - The most complete guide to the butterflies of Britain and Europe*. Harper Collins Publishers Ltd.
- Udayagiri, S., & Mason, C. E. (1997). Epicuticular wax chemicals in zea mays influence oviposition in *Ostrinia nubilalis*. In *Journal of Chemical Ecology* (Vol. 23, Issue 7). <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006443.72203.f7>
- Ulmer, B., Gillott, C., & Erlandson, M. (2003). Conspecific eggs and bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae), oviposition site selection. *Environmental Entomology*, 32(3), 529–534. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-32.3.529>
- Valladares, G., & Lawton, J. H. (1991). Host-Plant Selection in the Holly Leaf-Miner: Does Mother Know Best? *The Journal of Animal Ecology*, 60(1), 227. <https://doi.org/10.2307/5456>
- van den Bosch, T. J. M., & Welte, C. U. (2017). Detoxifying symbionts in agriculturally important pest insects. *Microbial Biotechnology*, 10(3), 531–540. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12483>
- Webb, M. R., & Pullin, A. S. (2000). Egg distribution in the large copper butterfly *Lycaena*

- dispar batavus (Lepidoptera: Lycaenidae): Host plant versus habitat mediated effects. *European Journal of Entomology*, 97, 363–367. <https://doi.org/10.14411/eje.2000.055>
- Wheat, C. W., Vogel, H., Wittstock, U., Braby, M. F., Underwood, D., & Mitchell-Olds, T. (2007). The genetic basis of a plant-insect coevolutionary key innovation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(51), 20427–20431. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706229104>
- Wiesen, B., Krug, E., Fiedler, K., Wray, V., & Proksch, P. (1994). Sequestration of host-plant-derived flavonoids by lycaenid butterfly *Polyommatus icarus*. *Journal of Chemical Ecology*, 20(10), 2523–2538. <https://doi.org/10.1007/BF02036189>
- Wildt, J., Kobel, K., Schuh-Thomas, G., & Heiden, A. C. (2003). Emissions of Oxygenated Volatile Organic Compounds from Plants Part II: Emissions of Saturated Aldehydes. In *Journal of Atmospheric Chemistry* (Vol. 45).
- Williams, K. S., & Gilbert, L. E. (1981). Insects as selective agents on plant vegetative morphology: Egg mimicry reduces egg laying by butterflies. *Science*, 212(4493), 467–469. <https://doi.org/10.1126/science.212.4493.467>
- Willmer, P. G. (1982). Microclimate and the Environmental Physiology of Insects. *Advances in Insect Physiology*, 16(C), 1–57. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60151-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60151-4)
- Wu, J., & Baldwin, I. T. (2010). New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. In *Annual Review of Genetics* (Vol. 44, pp. 1–24). Annual Reviews. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102209-163500>
- Wu, Y., Trepanowski, N. F., Molongoski, J. J., Reagel, P. F., Lingafelter, S. W., Nadel, H., Myers, S. W., & Ray, A. M. (2017). Identification of wood-boring beetles (Cerambycidae and Buprestidae) intercepted in trade-associated solid wood packaging material using DNA barcoding and morphology. *Scientific Reports*, 7. <https://doi.org/10.1038/srep40316>

### **Internetiallikad:**

Bink, F., Moenen, R. (2015). "Butterflies in the Benelux: 35 *Lycaena tityrus* (Poda, 1761) / Sooty copper / Lycaenidae – Lycaeninae". Flemish Entomological Society. [http://www.phegea.org/Dagvlinders/BinkMONOLYC/Bink\\_Monograph\\_Ltityrus.htm](http://www.phegea.org/Dagvlinders/BinkMONOLYC/Bink_Monograph_Ltityrus.htm) (Kasutatud 13.05.2021)

Eesti Entsüklopeedia (1992) Mikrokliima. <http://entsyklopeedia.ee/artikkel/mikrokliima1> (Kasutatud 12.05.2021)

ImageJ – Image Processing and Analysis in Java: <https://imagej.nih.gov/ij/> (Kasutatud oktoobris 2018. aastal)

PlutoF projekt - Liigikaaslaste mõju pruun-kuldtiiva (*Lycaena tityrus*) munemiskäitumisele 2018-2019: <https://plutof.ut.ee/#/study/view/98124> (Kasutatud 12.03.2021)

PubChem Compound Summary for CID 6557, Isoprene. National Center for Biotechnology Information (2021). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Isoprene> (Kasutatud 11.05.2021)

Suomen Lajitietokeskus – *Lycaena tityrus* <https://laji.fi/en/taxon/MX.60820> (Kasutatud 13.05.2021)

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

Mina, Laura Tammiste,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Liigikaaslaste mõju pruun-kuldtiiva (*Lycaena tityrus*) munemiskäitumisele“, mille juhendajad on Toomas Esperk ja Triinu Rimmel, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BYNC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

*Laura Tammiste*

**28.05.2021**