

RMK TEADUSPROJEKTI LÕPPARUANNE

1. PROJEKTI NIMETUS: Metsakultiveerimisega seotud metsakaitseprobleemid Eesti metsanduses ning nende vältimine keskkonnasäästlike tõrjevõtetega

2. PROJEKTI KESTUS **Algus:** september / 2012 **Lõpp:** september / 2015
 Kuu/aasta Kuu/aasta

3. PROJEKTI TAOTLEJA (teadusasutus): Eesti Maaülikool, metsandus- ja maaehitusinstituut

Telefon: 50 84 929

Address: Eesti Vabariik, Tartu maakond, Tartu linn, Kreutzwaldi 1

Registrikood: 74001086

Panga rekviisidid: 1010200084008, SEB Pank AS, Tornimäe 2, 15010 TALLINN

4. PROJEKTI JUHT: **Ivar Sibul** **Dotsent, PhD**
 (Ees- ja perekonnanimi) (Amet, teaduskraad)

5. PROJEKTI PÕHITÄITJAD

Projekti põhitäitjad:

Ees- ja perekonnanimi	Teaduskraad	Ametikoht
1. Ivar Sibul	PhD	dotsent
2. Irja Kivimägi	PhD	spetsialist
3. Rein Drenkhan	PhD	dotsent
4. Urmas Kõljalg	PhD	professor, akadeemik
5. Leho Tedersoo	PhD	vanemteadur
6. Enno Merivee	PhD	vanemteadur
7. Angela Ploomi	PhD	teadur
8. Katrin Jõgar	PhD	dotsent
9. Kadri Põldmaa	PhD	teadur
10. Tiia Drenkhan	MSc	spetsialist

Projektiga seotud abitööjõud:

1. Silver Sisask	MSc	doktorant
2. Karin Nurme	MSc	doktorant
3. Kalev Adamson	MSc	doktorant, spetsialist
4. Riho Remmelgas	BSc	magistrant
5. Elisabeth Rähn	BSc	magistrant
6. Annika Pertman	BSc	magistrant
7. Kersti Soovik	BSc	magistrant
8. Tiina Rehema	BSc	magistrant
9. Ako Rodima	MSc	lepinguline töötaja

6. PROJEKTI KULUD KOKKU139 740..... eurot

Kulurida	Kokku
Töötasud (põhitäitjad + abitööjõud)	55 378,34
Sotsiaalmaks	18 276,68
Töötuskindlustusmaks	655,98
Ostetud teenused	18 916,23
Lähetuskulud	6 966,65
Materjalid, tarvikud, masinad, seadmed	4 322,85
Muud kulud	21 249,27
Üldkululõiv	13 974,00
Kokku	139 740,00

7. PROJEKTI TULEMUSED

7.1 Projekti lühikokkuvõte

Süsteemne neonikotinoid Actara 25 WG (toimeaine tiametoksaam) hariliku männikärsaka valmikutele repellentset mõju ei avalda. Sellel neurotoksilisel pestitsiidil esineb tugev negatiivne mõju samades biotoopides elunevatele röövtoidulistele lüljalgsetele. Istutusmaterjali tüvekeste katmine kaitsevahaga on efektiivsem ja keskkonnasäästlikum viis kaitsta okaspuukultuure putukkahjustuste eest. Raiesmikel liikuvad männi- ja kuusekultuuride põhilised kahjurputukad (*Hylobius abietis*, *H. pinastri*, *Hylastes brunneus*) kannavad edasi paljusid seentakseid, millest mitmed on potentsiaalsed patogeendid või kiire kasvuga saprotoofid ja endofüüdid.

7.2 Abstract

Neonicotinoid Actara 25 WG (a.i. thiamethoxam) has no repellent effect on the large pine weevil adults. Neurotoxic pesticide has strong negative impact on predatory carabid beetles. Wax is effective and eco-friendly method to defend coniferous seedlings and transplants against insect pests. Pine weevils and root-feeding bark beetles moving in the clear-cutting areas are carrying forward many fungi taxons among them a number of potential pathogens or/and sapro- and endophytes.

7.3 Tulemused

Projekti täitmisel lähtuti taotluses seatud peaesmärkidest. Selgitati välja uuendusriietega kaasnevate lüljalgsete ja seenpatogeenide liigirikkus ning nende võimalik mõju rajatud okaspuukultuuridele. Proovid koguti 25 kuuseenamusega ja 25 männienamusega lageraielankidelt. Rajati erineva okaspuuistutusmaterjaliga neli katsekultuuri, kus kolme aasta jooksul teostati männikärsakate kahjustuse monitoring erinevalt töödeldud katsetaimedel ning lisaks entomofauna ja selle muutuste uuring. Projekti järgselt jätkub samadel aladel lüljalgsete kogumine ja määramine ning saadud andmete põhjal loodud faunistilise andmebaasi täiendamine.

Uuriti põhiliste okaspuukultuuride kahjurite (männikärsakad (*Hylobius* spp.), juureüraskid (*Hylastes* spp.)) rolli erinevate seenpatogeenide (juurepess (*Heterobasidion* spp.), *Phytophthora* spp., *Diplodia sapinea*) ja juurepessu antagonistorganismi – hiidkooriku (*Phlebiopsis gigantea*) ning samades metsabiotoopides esinevate teiste organismide (saprotoofsed seened, viirused) võimaliku levitajana.

Selgitati Eesti riigimetsas kasutatava neonikotinoidi Actara 25 WG (toimeaine tiametoksaam) ning insektsiidsete omadustega taimedest eraldatud metaboliitide baasil loodud ja tööstuslikult toodetud uudsete biopestitsiidide, bioloogiliste õlide ning vahade kaitsevõime ja mõju püsivust eritüübilise okaspuuistutusmaterjali (poti- ning paljasjuurde kuuse- ja männitaim) kaitsmisel männikärsakate kahjustuste eest männi- ja kuuseenamusega uuendusriielankidelt. Lisaks hinnati kõigi kasutatud insektsiidide fütotoksilisust okaspuutaimedel.

Uuriti neonikotinoid- ja püretroidpreparaatide ning biopestitsiidide letaalsete ja subletaalsete dooside mõju männikärsakate ja nende peamiste looduslike vaenlaste (röövtoidulised jooksiklased) põhilistele toitumistaksistele, lokomotoorsele aktiivsusele, füsioloogiale, külmakindlusele ja suremusele. Laboris läbiviidud valik- ja sundtootumiskatsetega selgitati välja kõigi preparaate neurotoksiline, repellentne/deterrentne ja/või antifidane mõju männikärsakatele ja röövtoidulistele jooksiklastele.

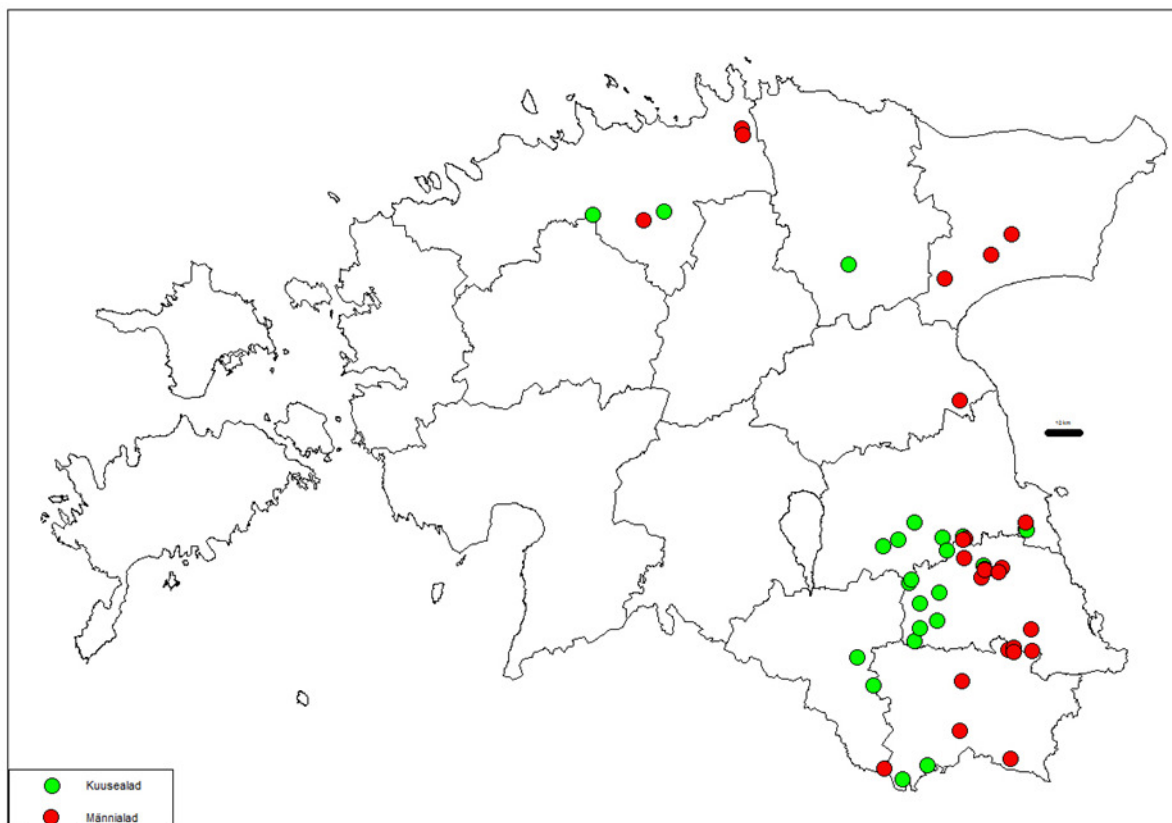
Koostati soovitusel ja juhised okaspuukultuuride ja loodusliku uuenduse kaitsmiseks putukkahjurite eest loodussäästlike metsakaitse meetoditega, loobumaks sünteetiliste pestitsiidide kasutamisest Eesti riigimetsas ja taimlates.

7.3.1 Välikatsealade valik ja paiknemine

Projekti eesmärkidest lähtuvalt valiti projekti läbiviimise esimesel aastal Eesti riigimetsas välja 4 värskest raiutud lageraielanki (2 kuuse- ja 2 männienamusega ala) (Kv QT095 Er 5; Kv QT124 Er 6; Kv KJ096 Er 1; Kv KJ095; Er 19), kuhu rajati, kasutades eriliigilist okaspuuistutusmaterjali (poti- ning avajuurde kuuse- ja männitaim), 2013.a mai algul katsekultuurid. Välikatsetes kasutatud okaspuuistutusmaterjali (n=2945) töödeldi enne raiesmikele istutamist vastavalt katseskeemile erinevate sünteetiliste ja biopestitsiididega. Nimetatud aladel toimus aastatel 2013–2015 pidev taimede vaatlus, mille käigus hinnati iganädalaliselt (maist septembrini) kahjustuse ulatust iga üksiku taime juurekaelal.

Männikärsakate arvukust, soolist ja sesoonset dünaamikat ning entomoloogilist elurikkust raiesmikul jälgiti aladele rajatud/paigutatud pinnase- ja akenpüünistega.

Mullaelustiku (seente; putukate valmikud, vastsed ja nukud; nematoodid: lestad; ämblikulaadsed) määramiseks valiti lisaks neljale põhikatsealale, üle Eesti välja veel 23 männi ja 23 kuuse lageraielanki (joonis 1), kust koguti 2013, 2014 ja 2015.a mai ja juunikuul jooksul igal aastal mullakoondproovid (kõigilt raiesmikelt vähemalt 20 üksikproovi ning 20 proovi raiesmikuga piirnevalt kõrvaltalt ehk sarnaste või lähedaste tunnustega raiumata puistutest, mis asus 100–200 m kauguselt langi servast). Lisaks koguti 20 mullaproovi ka metsaistutusmaterjali kasvatavatest taimlate kasvusubstraadist ja muldadest. Kokku koguti projekti jooksul 220 mullakoondproovi, s.h kuusikutest/kuuselankidelt 100 proovi ja männikutest/männilankidelt 100 proovi. Kuivõrd kordusproovid võeti igal aastal samadelt katsealadelt on kõik proovivõtukohtad kantud aluskaardile ning varustatud GPS koordinaatidega.



Joonis 1. Mullaproovide kogumise asukohad

7.3.2 Elustiku uuringud

Putukate liigirikkus ja arvukus põhikatsealadel

Entomoloogilise elurikkuse ja arvukuse ning männikärsakate soolise ja sesoonse dünaamika uurimine toimus 2013–2015.a maist septembrini, milleks kasutati akenpüüniseid ja püünisauke. Putukapüünised (5 pinnasepüünist ning üks akenpüünis) olid paigutatud kõigile neljale põhikatsealale. Putukad koguti püünistest 9-päevase intervalliga. Putukate fikseerimiseks ja konserveerimiseks akenpüünistes kasutati propüleenglükooli. Putukaproovid säilitati laboris temperatuuril -18 °C. Proovides olevad kõik putukad loendati ja võimaluse korral määrati need liigini. Mõnede putukarühmade juures piirduti määramisel kas perekonna või sugukonna tasemega, sest nende määramiseks pole Eestis spetsialiste. Sama kehtib püünises vigastatud isendite kohta, kelle määramine liigini osutus võimatuks.

Kokku püüti pinnasepüünistega 2834 hariliku männikärsaka ning 224 väike-männikärsaka valmikut. Männikärsakate arvukus oli värsketel ja kuivadel männiraiesmikel oluliselt kõrgem kui niiskematel kuusealadel. Männialadel sattus püünisaukudesse kokku 2132 hariliku männikärsaka ning 83 väike-männikärsaka valmikut. Kõikidel aladel oli mõlemast liigist männikärsakate arvukus suurim 2013.a ehk värsketel raiesmikel. Arvukus vähenes kõigil aladel oluliselt teisel ja kolmandal vaatlusaastal. Sesoonselt oli arvukus kõrgeim mai keskpaigast kuni juuni lõpuni, madalaim juulis ja septembris. Värsketel raiesmikel oli isas- ja emasputukate sooline tasakaal peaaegu võrdne (43% isas- ja 57% emasputukaid) ning see ei muutunud kuigivõrd sesoonselt. Teisel ja kolmandal aastal suurenes kõigil raiesmikel oluliselt emasputukate osakaal. Emasmardikad moodustasid teise ja kolmanda aasta raiesmikelt püütud männikärsa valmikutest vastavalt 68% ja 74%.

Lisaks männikärsakatele leiti pinnasepüünistest kokku veel vähemalt 63 liiki mardikalisi ning leitud isendite arv ilma *Hylobius* spp. liikideta oli kokku 1446. Kuivõrd kogu kolme aasta püügimaterjal pole veel täielikult läbi vaadatud ning mõned liigimääramised vajavad kontrollimist siis leitud liikide ja isendite arv kindlasti kasvab. Püünisaukudesse sattus männikärsakate kõrval enam jooksiklasi (*Pterostichus oblongopunctatus*, *P. cupreus*, *P. aethiops*, *Carabus cancellatus*, *C. arvensis*, *C. glabratus* etc.), arvukalt ka lühitiiblasti (Staphylinidae) ja metsasitikat (*Geotrupes stercorosus*).

Akenpüüniste püügitulemustest on läbi vaadatud ja määratud peamiselt 2013.a faunistiline materjal. Liikide nimestik ja püütud isendite arv on esitatud põhikatsealadel olnud akenpüüniste (AKp 1, AKp 2, AKp 3, Akp 4) ja kuude (maist augustini) lõikes lisafailina (lisa 1). Akenpüünistes oli kõige enam mardikalisi, keda leiti kokku 284 liiki (3360 isendit), kelledest arvukaimad olid ürasklased (Scolytidae), lühitiiblastid (Staphylinidae) ja hiilamardiklased (Nitidulidae). Mardikaliste osas osutus isenditerohkeimaks kõigi püügiperioodide lõikes Tartumaal Haaslava vallas endisel jänesekapsakuusiku raiesmikul (Kv QT095 Er 5) asuv akenpüünis (AKP 1). Maikuu ületas sellesse püünisesse sattunud mardikaliste üldarv teiste püüniste mardikate isendite üldarvu 3,6–4,6 korda.

Nii suurt erinevust põhjustas sellel püügalal (AKP 1) võrreldes teiste aladega põhiliselt üraskite väga suur arvukus (joonis 3). Teistes püünistes oli üraskeid ligi 5 korda vähem. Kõige arvukamateks liikideks olid kõduürask (*Hylurgops* spp.), juure- (*Hylastes* spp.), võra- (*Pityogenes* spp.), puidu- (*Trypodendron* spp.), käabus- (*Crypturgus* spp.) ja kühmüraskid (*Cryphalus* spp.), kelle põhilisteks haudmepuudeks on kuusk, harvem mänd.

Üraskiliikide üldarv sel perioodil, mis langes nende lennuaja lõpuosasse, oli samuti küllaltki suur – 31 liiki. Kõige rohkem liike (23) oli jällegi alal AKP 1 (Kv QT095 Er 5), aga kõige vähem (16) Kiidjärvel, endise pohlamänniku raiesmikul (Kv KJ095; Er 19) (AKP 3) Põlva maakonnas.

Samal püügiperioodil oli ala AKP 1 akenpüünises ka lühitiiblaste isendite üldarv tunduvalt (4,5–9 korda) suurem kui ülejäänud püsikatealadel. Seda põhjustas peamiselt väikeste (kehapikkus 2–5 mm) ja enamasti röövtoiduliste lühitiiblaste röhuv ülekaal püünises.

Võimalik, et selline suur erinevus ürasklaste osas oli põhjustatud lähedal asuvate metsade tervislikust seisundist. Tasub märkida, et lisaks lühitiiblaste suuremale arvukusele just selles vaatluspunktis, torkab silma ka mõnede teiste röövtoiduliste putukarühmade suurem osakaal. Näiteks mardikalistest roisklaste (Histeridae), sipelgmardiklaste (Cleridae), hiilamardiklaste, käiguõgilaste (Rhizophagidae) ja samuti ka parasiitsete kiletiivaliste (Hymenoptera; Parasitica) ning kahetiivaliste (Diptera; Nematocera, Bracycera) osatähtsus. Neist paljud liigid on arvestatavad metsakahjurite arvukuse reguleerijad.

Kõige vähem oli mardikalisi maikuu – 721 isendit – Kambja vallas endise jänesekapsa-naadi kuusiku raiesmikul (Kv QT124 Er 6) asuvas akenpüünises (AKP 4), kuid see ületas sellegipoolest umbes 10-kordselt teiste püüniste mardikaliste arvu juunis ja üle 20 korra sama arvu augustis. Ainult maikuu ületas püünisesse sattunud mardikaliste arv kõigis vaatluskohtades tugevalt teiste putukaseltside arvu, edaspidi vähenes mardikate osakaal kiiresti, saavutades augusti alguseks selle vaatlusperioodi madalama taseme.

Ülejäänud vaatluskohtades – AKP 2 (Kv KJ096 Er 1), AKP 3 (Kv KJ095; Er 19) ja AKP 4 (Kv QT124 Er 6) oli mardikaliste üldarv küllaltki stabiilne. Ainult juunis ulatus see veidi üle 100 isendi püünise kohta, aga nii juulis kui augustis jätkus pidev vähenemise tendents, kuni mardikaliste üldarv langes juba alla 50 isendi püünise kohta.

Mardikatele lisaks sattus akenpüünistesse arvukalt ka teiste putukaseltside esindajaid, kuid erinevused püüniste vahel polnud nii suured kui mardikaliste puhul ja teiste putukate üldarv püünises suhteliselt stabiilsem. Põhiline osa neist putukatest kuulus kahetiivaliste seltsi – erinevad sääse- ja kärbseliigid. Seega määras teiste putukate üldarvu dünaamika just nende rühmade arvukuse suhteliselt vähene kõikumine, õigem oleks nimetada seda arvukuse pidevaks languseks.

Olemasolevate suhteliselt veel väheste läbitöötatud andmetega kõigis neljas uurimisalal on raske selgitada võimalikke põhjuseid erinevate alade entomofaunas ja selle sesoonses dünaamikas. Kuna neist piirkondadest on läbitöötamist vajavat vaatlusmaterjali rohkesti, jääb lootus, et kogu materjali määramisel saavad mõnedki esmapilgul tunduval erinevused usutatavad selgitused. Kindlasti tuleks analüüsida arvesse võtta ka alade ilmastikuandmeid, millel on putukate käitumisele, aktiivsusele ja arengule otsene mõju.

Mullaelustiku uuringud

Mulla koondproovid koguti ja töödeldi (kuivatati ja homogeniseeriti) standardse meetodika alusel. Mullaelustiku määramiseks kasutati uue põlvkonna DNA sekveneerimismeetodit. Kahest grammist mullast eraldati MoBio PowerSoil Maxi kiti abil kogu proovis olev koosluse DNA. Kasutades TÜ mükoloogia uurimisgrupi poolt spetsiaalselt välja töötatud identifitseerimisliisandiga praimereid, amplifitseeriti mullaproovide DNAST seente tuuma ribosomaalse DNA ITS2 järjestused, mis ligeeriti spetsiifilistele adapteritele ja sekveneeriti „2x300 PE“ meetodil, kasutades Illumina MiSeq tehnoloogiat.

Sekveneerimisel saadud andmed korrastati bioinformaatiliste meetoditega nii, et fragmentide kummagi otsa järjestused ühildati, eemaldati lühikesed ja kimäärsed DNA järjestused ning lõigati maha mittevarieeruvad otsad. Kvaliteetsed järjestused klasterdati lähimnaabri meetodil 97% sarnasuse põhjal, mis vastab ligikaudu liigi tasemele. Proovide analüüsil kasutati ka puhaskultuuride meetodikat ning liikide tuvastamisel Sangeri sekveneerimist või liigispetsiifilisi molekulaarseid analüüse. Proovitulemused on analüüsimisel, esialgsed kokkuvõtted saadakse oktoobriks 2015.

Lisaks taimla mullaproovidele analüüsiti molekulaarmetoodikaga metsataimlate looduslike veevõtukohtade seenpatogeenide puhtust, tuvastamaks eelkõige *Phytophthora* liikide esinemist veekogudes. Taimlatiikidest ja jõgedest kogutud proovidest andsid positiivse tulemuse kaks proovi viiest. Tartu Rõõmu tee puukooli tiigist kogutud proovist määrati *P. gallica* esinemine. Samuti määrati Emajõe *P. gonapodyideas* esinemine. Teistest proovivõtukohtadest (Kullenga, Marana, Sõmerpalu taimlad) *Phytophthora* liike ei tuvastatud. Testitud *Phytophthora* praimerite tulemusena leiti, et edaspidiseks *Phytophthora* spp. analüüsideks ja kiireks liigi tuvastamiseks on soovituslik kasutada liigispetsiifilise praimerite paari FMPHy-8b; FMPHy-10b.

Nimetatud uuringut kajastab magistritöö – S. Sabas (2015). *Phytophthora* spp. leidudest puudel ja veekogudes Eestis.

Seenpatogeenide uuringud istutusmaterjalil ja okaspuukändudel

Taimlatest välja viidaval istutusmaterjalil ei ole alati visuaalselt tuvastatavaid haigussümptomeid. Tihti avalduvad need alles hiljem metsakultuuri istutamisel või selle järel. Kasutades DNA-põhised liigituvastusmeetodid, selgitati käesoleva projekti raames katsealadele istutatud taimede tüvepuidust võetud proovide analüüsiga taimedel esinevad patogeenid. Kokku analüüsiti 80 taimeproovi, mis võeti 40 raiesmikule istutatud kuuse- ja 40 männitaimelt. Pooled mõlemast liigist taimedest olid kahjustamata ja pooled männikärsakate poolt eelnevalt kahjustatud.

Kahjustatud ja näiliselt tervetel okaspuutüvekestel esinenud seenekoosluste koosseisus ei tuvastatud esialgsel andmetel märkimisväärseid erinevusi, kuid nimetatud kooslused vajavad enam ja sisukamaid analüüse.

Analüüsitud kahjustatud taimede puidukudedest määrati kokku 52 ja kahjustamata taimedest 53 seentaksonit, milledest sagedasemad olid: *Penicillium*, *Mortierella*, *Ceratobasidium*, *Malassezia*, *Cryptococcus*, *Ophiostoma* ja *Phaeomoniella*. Enamus taimedelt määratud seentaksonitest leiti rohkearvuliselt ka analüüsitud putukatelt (vt ptk 7.3.3).

Katsealade kaupa analüüsiti ka mädanikuga puude (kändude) osakaalu ning võimalikke mädanike tekitajaid. Mädanikku hinnati 13 männienamusega langilt ning kokku analüüsiti 1002 männikändu. Mädanikuga ja mädaniku tunnustega tuvastati kokku 251 männikändu, s.o 25% kogu hinnatud kändudest. Kuuseenamusega aladel (19) analüüsiti kokku 1729 kändu. Kokku tuvastati mädanikku 648 kuusekännult, s.o 38% kogu hinnatud kändudest.

7.3.3 Metsakultuuride kahjurid kui seenpatogeenide levitajad

Seenpatogeenide levik putukate kehakatetega

Uurimaks metsakultuuride kahjuritega samades metsabiotoopides esinevate teiste organismide (saprootroopsed seened, viirused jne) vastastikke seoseid, viidi projekti käigus läbi rida laborkatseid. Peamiselt selgitati, missuguste patogeensete seente ja viiruste potentsiaalseteks levitajaks võivad olla raiesmikel liikuvad männi- ja kuusekultuuride põhilised kahjurputukad (*Hylobius abietis*, *H. pinastri* ja *Hylastes brunneus*), analüüsiti pürosekveneerimise meetodil nimetatud putukate kehakatetel ja seedekulglas esinevaid seeni. Kahjurputukate proove koguti kuult erinevalt katsealalt Tartu-, Põlva- ja Võrumaalt, kokku 79 putukat.

Sarnaselt mulla- ja taimekudedes proovide eraldamisele toimus ka putukaproovide eraldamine PowerSoil 100 kiti abil 0.2 grammist materjalist. Putuka- (ja ka taime)proovidest amplifitseeriti seened praimeritega gITS7 ja ITS4tag, mis ei seondu loomade ribosomaalse DNAGA.

Uuringu tulemusena saadi >18 miljonit DNA järjestust, mis klasterdati ligi 13 500 taksoniks, millest 89% moodustasid seened. Olulisemad ja tuntumad nimetatud putukatelt leitud juure- ja juurekaela mädanikutekitajad on juurepess (*Heterobasidion* spp.) ja põhjatorik (*Climacocystis borealis*), samuti puidusinetuse tekitajad – *Ophiostoma* spp. ja *Ceratocystis* sp. ja puudele haavandite ja vähktõbede tekitajad – *Neonectria* sp. ja *Nectria* sp. Üllatuslikult leiti putukatelt ka okkahaiguste tekitajad: männipudetõbi, punavöötaud, *Sydowia polyspora* ning taimlahaigused: *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. ja *Cladosporium* sp.

Mõlemad männikärsaka liigid ning juureüraskid kandsid üksteisega väga sarnaseid seenekooslusi

(kattuvus 49% ulatuses). Lisaks leiti männikärsakates ja analüüsitud taimekudedes üllatavalt palju ühiseid seentaksoneid, mis viitab ulatuslikule seente transpordile putukate seedekulgla ja/või kehapiinal. Putuka poolt levivate seente seas paistsid silma puidulagundajad perekondadest *Penicillium*, *Mortierella*, *Ceratobasidium*, *Malassezia* ja *Cryptococcus*.

Juureüraskite ja kändude proovide analüüs näitas samuti suurt (53%-list) seentaksonite kattuvust putuka- ja taimeproovides. Analüüsitud ürasekoproovidest olid sagedasemad perekondade *Ophiostoma*, *Ceratocystis*, *Malassezia* ja *Phaeoconiella* liigid, mis on tuntud puidusinetuste tekitajad.

Töö esialgsetest tulemustest järeldub, et kahjurputukad kannavad edasi märkimisväärselt paljusid seentaksoneid, millest mitmed on potentsiaalsed patogeenid või kiire kasvuga saprotroofid ja endofüüdid. Asjaolu, et 400-aluspaarilisi DNA lõike suudeti hõlpsalt sekveneerida, viitab sellele, et DNA on intaktne ning on suur võimalus, et seente levised on putukatel elujõulised.

Kahjuritelt leitud ootamatult suur seente elurikkus (üle 10000 taksoni) ja selle analüüsimine ning taksonite rühmitamine on olnud äärmiselt aeganõudvad protsessid. Käesoleva uuringu andmetöötlus jätkub ning uurimus avaldatakse 2016. aasta kevadel magistritöödena (Riho Remmelgas (TÜ), Elisabeth Rähn (EMÜ) ning paralleelselt teadusartiklitena.

Männikärsakad, kui seeneliikide ja viiruste siirutajad

Uurimistöö käigus hinnati mõnede seeneliikide (kuuse-juurepess (*Heterobasidion parviporum*), *Diplodia sapinea*, hiidkooriku (*Phlebiopsis gigantea*)) ja viiruste elujõulisust pärast hariliku männikärsaka seedetrakti läbimist. Selleks toideti putukaid eelpoolnimetatud seenetüvedega läbikasvanud männi ja kuuse okstel. Putukate ekskrementide külvamise järel spetsiaalsele agar-agar söötmele proovid mikroskopeeriti. Seene esinemine putukate ekskrementidest määrati liigispetsiifiliste PCR praimeritega (ITS4 ja ITS1F).

Analüüsi kolme kuuse-juurepessu tüve elujõulisust peale hariliku männikärsaka seedetrakti läbimist. Kõik kasutatud juurepessu tüved olid nakatunud ka viirusega. Putuka ekskremeente analüüsidest leiti, et elujõulisuse säilitasid pooled katsetatud seenekultuuridest (30 kultuuri 60st). Viiruse elujõulisus säilis samuti 50% juhtudel pärast putuka seedekulgla läbimist.

Uurimus, mis publitseeriti ajakirjas *Forest Pathology* (Drenkhan *et al.*, 2013) (lisa 2), näitas, et männikärsakad kannavad keha pinnal haigustekitajaid ning putuka seedekulgla läbimisel säilivad juurepessu mütseel ja eosed elujõulisuse, kuid veelgi enam suudavad männikärsakad levitada seenetüvedega kaasnevaid viirusi.

Laborikatsed patogeense *D. sapinea* tüvega näitasid, et männikärsaka valmikud on labortingimustes suutelised seedetrakti kaudu, sarnaselt juurepessuga, edasi kandma *D. sapinea* mütseeli ja seeneeoseid. Lisaks leiti, et putukas suudab ka looduslikes tingimustes *D. sapinea* eoseid siirutada. Uuritud putukatest kandsid nimetatud patogeeni edasi 36%.

Uurimisandmete põhjal on koostatud käsikiri, mis on esitatud ajakirja *Forest Pathology* (Drenkhan *et al.*, 2015a) (lisa 3).

Laboratoorselt testiti ka viiruseid kandva hiidkooriku (tüve number 93073) ja viirusevaba bioregulaator Rotstop aluseks oleva hiidkooriku tüve oiidide elujõulisust peale hariliku männikärsaka seedetrakti läbimist. Katsetulemused näitasid, et Rotstop preparaadi aluseks olev hiidkooriku tüvi säilitas peale putuka seedetrakti läbimist täielikult oma elujõulisuse, samas kui viirusega nakatunud hiidkooriku tüvel (93073) oli elujõulisus madalam.

Saadud uurimistulemused on esitatud käsikirjana ajakirja *Biocontrol Science and Technology* (Drenkhan *et al.*, 2015b) (lisa 4). Viiruste roll seente ökoloogias on veel ebaselge ja seetõttu vajab see uurimissuund edasisi analüüsi, kuid metsakaitses võivad need tähendada uusi võimalusi seenpatogeenide tõrje tõhustamisel.

7.3.4 Insektiitsiidide mõju männikärsakate käitumisele ja füsioloogiale

Olfaktoorsed katsed

Katsed erinevate insektiitsiidide ja nende mõju väljaselgitamiseks männikärsakale ning hariliku männikärsaka lõhnaorienteerumise põhimehhanismide kindlakstegemiseks toimusid 2012–2015.a Eesti Maaülikooli metsandus- ja maaehitusinstituudi metsakasvatuse osakonna metsaentomoloogia laboris. Uurimistöös kasutati Y-kujulist ja neljajarulist olfaktomeetrit, gaaskromatograaf-mass-spektromeetrit Agilent 7890B (USA) ning putuka liikumiskäitumise salvestamiseks ja analüüsimiseks videojälgimissüsteemi koos vastava tarkvaraga EthoVision XT 11 (Noldus Information Technology, Holland).

Kuivõrd hariliku männikärsaka valmikud toituvad peamiselt noorte okaspuutaimede tüvekoorest ning toidutaimede leidmiseks kasutavad putukad taimedest lenduvaid erinevate keemiliste ühendite (α -pineen jt) lõhnasid, siis analüüsi erinevate okaspuude (mänd, kuusk, lehis, nulg, ebatsuuga) koorest lenduvate lõhnaühendite ning vaigutärpentini ja tärpentini-etanooli segulõhnade mõju männikärsakate käitumisele. Samuti uuriti pestitsiidide ning toidutaimede ja pestitsiidide lõhnade mõju männikärsakate liikumiskäitumisele.

Töö tulemustena selgus, et kõigi toidutaimede lõhnad mõjusid harilikule männikärsakale atraktiivselt. Kõige tugevamalt mõjutasid putuka käitumist nuluvaigust lenduvad lõhnaühendid. Leiti, et katsetatud insektiitsiididest avaldasid männikärsaka valmikutele repellentset mõju botaaniline insektiitsiid NeemAzal T/S (toimeaine azadirachtin A) ja püretroidpreparaat Decis Mega (toimeaine deltametriin).

Repellentsete insektiitsiidide kasutamine on ökoloogiline viis putukatõrjes, kuna seeläbi peletatakse putukaid toidutaimedest eemale neid otseselt hävitamata. Olulise tulemusena leiti aga, et süsteemne neonikotinoid Actara 25 WG (toimeaine tiametoksaam) mardikatele repellentset (peletavat) mõju ei avaldanud, mistõttu selle preparaadiga eelnevalt töödeldud okaspuutaimed satuvad looduslikes tingimustes männikärsakate rüüste alla. Preparaadiga töödeldud taimedel toitudes kannavad aga männikärsakad preparaadi jääke loodusesse laiali, saastades sellega otseselt keskkonda ning viies neid ka biotoobi toiduahelasse.

Detailsed uurimistulemused ja töö meetodika on kirjeldatud A. Pertmani (2015) magistritöös (lisa 5) ning saadud andmete põhjal on koostamisel käsikiri.

Bioinsektiitsiidide mõju hariliku männikärsaka toitumis- ja liikumisaktiivsusele

Laborkatsetes uuriti kolme tööstuslikult toodetud insektiitsiidse biopreparaadi või -õli; neem (*Azadirachta indica*), pune (*Origanum vulgare*), karanja (*Millettia pinnata*) (tootjad: Trifolio GmbH; Neem India Products PVT Ltd; Ozone Biotech; Balscand); ning sünteetilise kaitsevaha (KVA AE Wax) (tootja Norsk Wax) mõju männikärsakate põhilistele toitumistaksistele, lokomotoorsele aktiivsusele ja suremusele. Võrdluseks kasutati sünteetilist insektiitsiidi Actara 25 WG (tootja Syngenta), mida tarvitati kahe erineva kontsentratsioonina – letaalse (0,2%) ja subletaalse (0,05%) doosina.

Katsete meetodiliselt kasutati nii valiktootumisteste kui ka sundtootumiskatseid (*choice and no-choice tests*). Lisaks määrati kõikidele preparaatidele antifidantsuse indeks (AFI).

Katsete tulemusena selgus, et kõik laborkatsetes kasutatud biopreparaadid avaldasid vähemal või suuremal määral mõju katseputukate käitumisele, pärssides mardikate toitumisaktiivsust, kuid preparaatidel esines ka putukatele toksiline toime. Samuti olid eri soost isendite käitumisreaktsioonid kasutatud preparaatidele erinevad. Mõju katseputukale sõltus ka kasutatud emulsiooni kontsentratsioonist ja doosist. Parimateks deterrentideks ja antifidantideks osutusid vaha (AFI=0,95–1,0) ja pune õli (AFI=0,95–1,0). Karanja õli omas küll putukatele söömapärssivat mõju, kuid võrreldes pune õli ja vahaga oli selle antifidantsus (AFI=0,13–0,41) tunduvalt madalam.

Neonikotinoid Actara osutus söötmürgina männikärsakatele väga toksiliseks, mõjudes kõigile katseputukatele tugeva närvimürgina, põhjustades 24 tunni jooksul peaaegu kõigi katseputukate surma. Ka mõjus tiametoksaam mardikatele kontaktelt söömist pärssivalt (AFI=0,43–0,69). Samas ei avaldanud kasutatud neonikotinoidpreparaat ühetaolist mõju emas- ja isasputukate toitumiskäitumisele, preparaati pärssis isasputukate üldist toitumisaktiivsust statistiliselt oluliselt rohkem kui emasputukatel.

Lisaks toitumiskatsetele, vaadeldi samade preparaatide letaalsete ja subletaalsete dooside akuutset mõju katseputukate käitumisaktiivsusele katsete ajal ning katsete järgselt. Neonikotinoid Actara letaalne doos ja biopestitsiidne karanja õli mõjutasid oluliselt hariliku männikärsaka emas- ja isasmardikate ööpäevast lokomotoorset aktiivsust, pärssides putukate üldist liikumisaktiivsust.

Põhjalikum ülevaade uurimistulemustest on esitatud lisa 6 (K. Kriisa (2014) bakalaureusetöö – *Tööstuslikult toodetud biopestitsiidide mõju hariliku männikärsaka (Hylobius abietis L.) käitumisele*). Saadud tulemusi esitleti 2015.a augustis toimunud rahvusvahelisel taimekaitse kongressil Berliinis. Koostamisel on tulemusi kokkuvõttev käsikiri.

Neonikotinoid Actara mõju hariliku männikärsaka valmikute füsioloogilisele seisundile

Putukate füsioloogilise seisundi hindamiseks kasutatakse peamiselt hingamis-ainevahetuse taseme määramist koos hingamismustrite kirjeldamisega, sest putukate hingamissüsteem on väga tundlik välismõjutuste, sealhulgas toksiliste ühendite suhtes. Füsioloogilise seisundi hindamiseks määratakse ainevahetuse tase ja hingamismustrid enne ja pärast insektiitsiidiga töötlemist. Ainevahetuse taset määratakse peamiselt süsihappegaasi eraldumise hulga alusel. Teada on, et putukapopulatsioonide

arvukust vähendavad insektitsiidide letaalsete dooside kõrval ka nõrgemad, otseselt mittesurmavad doosid, mis mõjuvad populatsioonidele kahjulikult järeitoime kaudu. Insektitsiidide järeitoimet putukate füsioloogilisele seisundile on seni vähe uuritud.

Projekti käigus uuriti peamiselt neonikotinoidpreparaadiga Actara 25 WG mõjutatud ning mõjutamata katseputukate hingamisrütmi muutusi. Pestiidi respiratoorset ja neuromuskulatoorset mõju katseputukatele uuriti ja registreeriti gaasianalüsaatoriga Li-6400XT (LI-COR Corporate, USA), millega oli ühendatud infrapuna-aktograaf.

Enamikul (n=55) katsetes kasutatud hariliku männikärsaka valmikutel esines katse algstaadiumis ebaühtlane gaasivahetustase ning ebakorrapärased gaasivahetuse tsüklid, mis muutusid korrapäraseks alles paarikümne minuti kuni paari-kolme tunni järeel, alates katse algmomenidist. Taoline stressiseisund oli arvatavasti põhjustatud putuka katse-eelsest käsitlemisest ja analüsaatorikambri paigutamisest. Teatud osal (n=17) katseputukatel aga säilis esialgne rahutus ning stress ei möödunud ka kogu katseperioodi jooksul. Viimaseid katseputukaid edasistes katsetes ei kasutatud.

Saadud tulemustest ilmnes, et Actara subletaalse doosiga (0,05%) mõjutatud putukatel esinesid olulised hingamiselundkonna töö tõrked ja gaasivahetuse hälbed: tsükliline gaasivahetus katkes pöördumatult ning muutus ka ainevahetuskirius. Arvatavasti on selle põhjuseks närvisüsteemi talitlushäirete tagajärjel tekkinud hingamisavade sulgurlihaste paralüüs. Insektitsiidiga mittemõjutatud hariliku männikärsaka valmikute keskmine ainevahetuskirius oli $0,22 \pm 0,04 \text{ m L CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, pärast Actara subletaalse doosiga mõjutamist suurenes see keskmiselt $0,34 \pm 0,07 \text{ m L CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Saadud andmete põhjal on koostamisel tulemusi kokkuvõttev käsikiri.

7.3.5 Insektitsiidide mõju röövtoiduliste putukate käitumisele ja füsioloogiale

Ükskõik millise taimekaitsevahendi kasutamisel mõjutatakse lisaks tõrjutavale kahjuriliigile samas biotoobis elunevaid teisi organisme. Männikärsakatel esineb rida looduslikke vaenlasi, kelleks on peamiselt röövputukad – jooksiklased (Coleoptera, Carabidae), kes võivad oluliselt vähendada männikärsakate arvukust raiesmikel. Röövtoidulised lüljalgsed võivadki olla esmaseks toiduahela lülks, kes saavad sekundaarse mürgituse. Seni on veel vähe teada, kuidas mõjutavad metsakaitses kasutatavad insektitsiidid (biopestitsiidid, püretroidid ja neonikotinoidid) nende röövtoiduliste putukate käitumist ja füsioloogiat.

Harilikule männikärsaka bioloogilise tõrje agentide ja kasulike putukate mudelorganismidena olid laboratoorses uuringutes vaatluse all okaspuuraiesmikel leiduvad peamiselt röövtoidulised jooksiklased: sõmerjooksik (*Carabus granulatus*), aiajooksik (*C. nemoralis*), põllujooksik (*C. cancellatus*), metsa-süsijooksik (*Pterostichus oblongopunctatus*), suur-süsijooksik (*P. niger*), ümarselg-süsijooksik (*P. aethiops*), süsi-ketasjooksik (*Platynus assimilis*), kirju-ketasjooksik (*Anchomenus dorsalis*).

Neurotoksiliste pestitsiidide mõju jooksiklaste suremusele ja liikumiskäitumisele

Pestiidiidide subletaalseid kõrvaltoimeid röövtoiduliste jooksiklaste käitumisele on seni vähe uuritud vaatamata sellele, et keemilisest stressist tingitud käitumise muutused võivad nende kasulike putukate populatsioone märgatavalt mõjutada. Tihti võivad subletaalsed käitumishäired kahjustada kasulike lüljalgsede populatsioone suuremal määral kui intoksikatsioonist tingitud otsene suremus.

Läbiviidud insektitsiidide madalate (0,1%, 0,05%, 0,015%) ja kõrgete (0,5%, 0,2%) kontsentratsioonide toime uuringud näitasid, et neonikotinoid Actara 25 WG (toimeaine tiametoksaam) ja püretroidpreparaatide Decis Mega (toimeaine deltametriin) ning Fastac 50EC (toimeaine alfa-tsüpermetriin) letaalsed ja subletaalsed doosid mõjutavad oluliselt sõmerjooksiku, ümarselg-süsijooksiku, suur-süsijooksiku, süsi-ketasjooksik ja aiajooksiku nii kohest kui hilisemat suremust, avaldades valmikutele paralüüsivast (halvavat) mõju ning kutsuvad putukate käitumises (lokomotoorses aktiivsuses ja lõhnaorienteerumises) esile olulisi muutusi. Võrdluseks kasutatud botaanilised insektitsiidid (NeemAzal-T/S, neemi- ja karanjaõli) katseputukate liikumiskäitumist ega suremust ei mõjutanud.

Uurimistulemused on esitatud K. Blumbergi (2013) (lisa 7), T. Rehema (2014) (lisa 8) ja K. Sooviku (2015) (lisa 9) magistritöodes ning valmimas on tulemusi tutvustav käsikiri.

Insektitsiidide nõrkade dooside mõju jooksiklaste motoorsele aktiivsusele ja käitumuslikule termoregulatsioonile

Üldine motoorne aktiivsus ja lokomatsioon on paljude käitumuslike loomulike osa ning ksenobioloogilise mõjust tingitud muutused nendes peegeldavad putuka integreeritud reaktsiooni pestitsiididele. Käesoleva projekti raames selgitati neurotoksilise püretroidi alfa-tsüpermetriini nõrkade

dooside mõju süsi-ketasjooksiku liikumisaktiivsusele ja käitumuslikule termoregulatsioonile kasutades spetsiaalseid areene ning spetsiaalset video-salvestuse ja -analüüsimise tarkvara Ethovision XT. Mardikaid mõjutati Fastac 50EC vesiemulsiooni sissekastmise meetodil järgmistel alfa-tsüpermetriini kontsentratsioonidel: 750, 100, 10, 1, 0,1 ja 0,01 mg L⁻¹. Video-analüüsi tulemused näitasid, et putuka lühiajaline (10 s) mõjutamine alfa-tsüpermetriiniga kontsentratsioonidel 0,01 kuni 100 mg L⁻¹ põhjustab esialgset lühiajalist (<2 h) lokomotoorset hüperaktiivsust, millele järgneb pikaajaline (>24 h) lokomotoorne hüpoaktiivsus. Lisaks häiretele lokomotoorses aktiivsuses esinevad putukal olulised lühi- ja pikajalised muutused üldise motoorse aktiivsuse mustris ja tasemes. Võib järeldada, et kasutatud insektiitsiidi maksimaalselt lubatud kontsentratsioonist kuni 75 000 korda nõrgemate emulsioonidega töödeldud jooksiklaste üldises ja lokomotoorses aktiivsuses täheldatud silmatorkavad muutused viitavad, et ka paljud teised kohasusega seotud põhikäitumusmustrid võivad olla tõsiselt häiritud. Need muutused võivad negatiivselt mõjutada kasulike jooksiklaste populatsioone metsa-ökosüsteemides.

Tulemused on avaldatud ajakirjas *Pest Management Science* (Tooming *et al.*, 2014) (lisa 10).

Läbiviidud katsed näitasid, et alfa-tsüpermetriini nõrgad doosid võivad tõsiselt häirida ka jooksiklaste käitumuslikku termoregulatsiooni, millel on otsesed kahjulikud tagajärjed mardikate ökoloogilisele kohasusele ja populatsioonidele metsa-ökosüsteemides. Käitumise automaatne videojälgimine eksperimentaalsel soojusmosaiiksel areenil (20–46,6 °C) näitas, et lühiajaline (10 s) töötlemine püretroidi 0,1–10 mg L⁻¹ emulsioonis vähendas drastiliselt mardikate käitumusliku termoregulatsiooni võimet. Ebasoodsalt kõrgetel temperatuuridel märkimisväärne osa mardikatest hukkus termošoki tagajärjel. Ülejäänud püretroidiga töödeldud mardikad ilmutasid käitumishälbeid. Areeni soojendamisel 25 kuni 46,6 °C, vähenes püretroidiga töödeldud mardikatel kontrolliga võrreldes oluliselt võime varjuda jahedas varjes (20 °C), samas viibisid nad märgatavalt kauem ohtlikult kõrgete temperatuuridega alades, millega kaasnesid muutused lokomotoorses aktiivsuses. Järgmisel päeval peale töötlust mardikad suurel määral taastasid käitumishälvetest, kuid nad viibisid siiski kontrolliga võrreldes märgatavalt kauem ohtlikult kõrgete temperatuuride mõjualas. Saadud tulemused näitasid esmakordselt, et käitumuslik termoregulatsioon on maapinnal tegutsevatel jooksiklastel tundlik ja tähtis etotoksikoloogiline biomarker. Kestva viibimisega ebasoodsalt kõrgete temperatuuride mõjualas kaasneb rida negatiivseid biokeemilisi, füsioloogilisi jt efekte, mis vähendavad mardikate kohasust ja ellujäämist metsamajanduslikele elupaikadele tüüpiliste kõrgemate temperatuuride ja järskude temperatuuri gradientide tingimustes (näit. avatud lageraiesmikel). Saadud tulemused võivad omada tähtsust integreeritud kahjuritõrje (IPM) programmides, mis soodustavad insektiitsiidide vähendatud dooside kasutamist.

Tulemused on avaldatud ajakirjas *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Merivee *et al.*, 2015) (lisa 11).

Jooksiklaste tundla bimodaalsete hügroneuronite reaktsioonid mõõdukatele ja ohtlikult kõrgetele temperatuuridele

Vaatamata sellele, et niiskus ja temperatuur mängivad määravat rolli putukate geograafilisel levikul ja elupaiga valikul, pole nende hügro- ja termoretseptiooni seni piisavalt uuritud. Praktiliselt midagi pole teada, kuidas putukate perifeerses närvisüsteemis kodeeritakse ohtlikult kõrgeid välistemperatuure. Käesolevas uurimuses selgitati elektrofüsioloogilisel meetodil metsa-süsijooksiku tundla termo- ja hügroneuronite reaktsioone nii püsitemperatuuridele kui ka temperatuuri kiiretele muutustele vahemikus 20–35 °C erinevates niiskustingimustes kasutades spetsiaalseid arvutitarkvarasid TestPoint ja Spike 2. Tulemustest selgus, et mõlemad hügroneuronid (nii kuiva kui niiske õhu neuron) reageerivad temperatuurile, mis tähendab, et nad on bimodaalsed. Käesoleva tööga suudeti esmakordselt lülijalgsetel näita, et mõlemat tüüpi hügroneuronitel on võime ebasoodsalt kõrgetel temperatuuridel lülituda regulaarsete närvi-impulsside genereerimiselt valanguliste impulsside genereerimisele. Impulss-jadade valangulisus (möödeti viit erinevat valangulisuse näitajat) on temperatuurisõltuvuslik ning suureneb koos temperatuuri tõusuga. Lävitemperatuurid mille juures kaks hügroneuronit lülituvad valanguliste impulsside genereerimisele on madalamad kui termoneuronil, erinevad omavahel ning langevad enamvähem kokku liigi temperatuuri preferentsi ülemise piiriga (25–30 °C). Võib oletada, et tundla termo- ja hügroneuronite temperatuurisõltuvuslikud närvi-impulsside valangud võivad jooksiklastel mängida tähtsat osa ohtlikult kõrgete temperatuuride tajumisel ja käitumuslikus termoregulatsioonis.

Tulemused on avaldatud ajakirjas *Journal of Insect Physiology* (Nurme *et al.*, 2015) (lisa 12).

Insektiitsiidide mõju jooksiklaste gaasi- ja ainevahetusele

Sarnaselt männikärsakatele, hinnati ka neonikotinoid- (Actara 25 WG) ja püretroidprepataatide (Fastac 50EC) subletaalsete dooside (0,05%, 0,005%, 0,001%) mõju mõnede jooksiklaste (aiajooksik, metsa-süsijooksik, süsi-ketasjooksik) füsioloogilise seisundile, määrares katseputukate ainevahetuse taseme ja hingamismustrid enne ja pärast insektiitsiididega töötlemist.

Katsetulemusest selgus, et kõigi preparaaside subletaalsed doosid kutsuvad jooksiklastel esile olulisi gaasivahetuse hälbeid – tsükliline gaasivahetus muutus pidevaks, närvisüsteemi talitlushäirete tõttu sagenesid lihaste kontraktsioonid ja tõusis ainevahetuse tase. Gaasivahetuse tsüklilisuse kadumine tõi kaasa ka veekao kiirenemise putuka kehast. Ainevahetuse tase ja vee kadu on omavahel tihedalt seotud füsioloogilised protsessid, ning nende oluline suurenemine põhjustab putukatel tavaliselt letaalse veekao, mille tagajärjel mardikad hukkuvad.

Saadud tulemused on osaliselt esitatud Irja Kivimägi doktoritöös ja publitseeritud ajakirjas *European Journal of Entomology* (Kivimägi *et al.*, 2013) (lisa 13).

Insektitsiidide mõju jooksiklastele külmakindlusele

Kuivõrd subletaalsete doosidega võib kaasnedä putukate talvise suremuse tõus ning esineda oluliste füsioloogiliste kohastumuste hälbed, siis uuriti käesoleva projekti raames kolme jooksiklase: sömerjooksik, metsa-süsijooksik ja süsi-ketasjooksik sesoonsel külmakindlust. Putukate külmakindlust iseloomustab allajahtumisvõime, mille all mõeldakse putuka kudede jahtumist 0 °C madalamas temperatuuris, ilma et sellega kaasneks kudede külmumine (jääkristallide moodustumine). Uuringu tulemusena selgus, et antud jooksiklaste allajahtumisvõime muutub sesoonselt ning nad kuuluvad külmumist vältivate (*freeze-avoiding cryotype*) liikide hulka, kes tõenäoliselt taluvad mittesesoonseid madalaid temperatuure.

Tulemused on publitseeritud ajakirjas *Forestry Studies* (Ploomi *et al.*, 2012) (lisa 14).

Katsetest selgus, et mõnede jooksiklaste (suur-süsijooksik) (n=252) külmakindlust võivad mõjutada lisaks neonikotinoidpreparaadile ka biopestitsiidide kõrgeid doosid. Saadud tulemuste põhjal on koostamisel magistritöö (Kristiina Aru), mis kaitstakse 2016.a kevadel.

7.3.6 Insektitsiidide mõju männikärsakate toitumisaktiivsusele välitingimustes

Hariliku männikärsaka valmikuid meelitavad okaspuutaimedele toituma peremeestaimede vaigu koostises olevad terpeenid ning teised taimest lenduvad bioaktiivsed ühendid, mis kutsuvad putukal esile mitmesuguseid toitumisele suunatud käitumistaksiseid. Mida intensiivsem on taimest või taimeosast lenduv putukale atraktiivselt mõjuv lõhnaühend, seda kõrgem on putuka käitumisaktiivsus ja suurem mõju toidutaimedele. Vähendades või osaliselt isoleerides toiduobjektist lähtuvaid lõhnu putukale repellentselt mõjuvate lõhnadega, võib oletada, et väheneb ka putuka huvi konkreetse toidusubstraadi suhtes. Selgitamiseks, kuidas toimivad männikärsaka toitumisele labortingimustes mõju avaldanud insektitsiidid looduses, eriti koostoimes istikust endast levivate lõhnasignaalidega, viidi 2013–2015.a läbi välikatsed. Selleks istutati vastavalt meetodikale ja katseskeemile neljale okaspuulageraielangile (kahele kuuse- ja kahele männienamusega alale) (Kv QT095 Er 5; Kv QT124 Er 6; Kv KJ096 Er 1; Kv KJ095; Er 19) erinevate sünteetiliste ja botaaniliste insektitsiidide ja kaitsevahadega eelnevalt töödeldud poti (n=1509) ja avajuursed kuuse- (n=1034) ja männitaimed (n=2945). Okaspuutaimed töödeldi laboris pestitsiididega 18 h enne nende istutamist katsealadele. Taimede töötlemiseks kasutati vastavalt neemi- ja karanjaõli (2%, 10%), püretroidpreparaati Decis EC 2,5 (0,2%) ja neonikotinoidi Actara 25 WG (0,2%) vesilahuseid ning sünteetilist kaitsevaha (KVAE Wax) ning sellele lisatud bioõlisid. Töötlemata kontrolltaimedele lisaks kasutati katsealadel ka RMK Räpina taimlas neonikotinoidiga töödeldud kuuse avajuurseid taimi (n=112) ning AS Plantex poolt juba kaitsevahaga kaetud kuuse potitaimi (n=652). Katsetulemuste hindamisel-analüüsil fikseeriti iga üksiku puutaimede tüvekesel olev koorekahjustuse ulatus (männikärsakate poolt söödud koorepind protsentides juurekaela ümbermõõdust) seitsme-päevase intervalliga mai keskpaigast kuni septembrini (2013. aastal). Järgnevate aastate sügisel (septembris) toimus kõigil katsealadel taimede ellujäämise hindamine, mille käigus loendati (männikärsakate kahjustuse tagajärjel ja muudel põhjustel) hukkunud/kahjustatud katsetaimed.

Enim kahjustati välitingimustes lisaks töötlemata kontrolltaimedele neonikotinoid Actara 25 WG vesilahusega töödeldud taimi, mis viitab selle preparaadi vähesele repellentsusele. Samas mõjus preparaat kahjurile kontaktelt deterrentselt ja antifidantselt, mistõttu selle insektitsiidiga töödeldud taimede keskmine koorepinnakahjustus oli väike, mis selgitab ka selles töötlusvariandis suhteliselt vähest hukkunud taimede arvu kahel järgneval vaatlusaastal. Läbiviidud välikatsed kõikidel aladel näitasid, et parima kaitse putukahjurite vastu annab taimede tüvekesele kantud kaitsevaha. Oluliselt pidurdas kahjustusi ka insektitsiidsete bioõlide lisamine vaha koostisesse. Samuti tõstsid kaitsevaha ning neemi- ja karanjaõlid taimede ellujäämist järgnevatel aastatel. Bioõlide kõrgekonsentratsioonilise (10%) töölahusega töödeldud taimede suur hukkumisprotsent viitab nende preparaaside võimalikule fütotoksilisusele. Teistel kasutatud preparaatidel okaspuutaimedele fütotoksilist mõju ei ilmnenu.

Saadud tulemustele toetudes koostati üldised soovitused okaspuukultuuride kaitsmiseks männikärsakate kahjustuste eest loodussäästlike integreeritud metsakaitse meetoditega (lisa 15).

7.4. Projekti peamised tulemused ja soovitusid nende rakendamiseks

1. Kasutades molekulaarmetoodikat viidi läbi elurikkuse sh. mullaelustiku uuringud okaspuu uuendusraiealadel, selgitamaks välja uuendusraietega kaasnevate putukkahjurite ja haigustekitajate liigirikkus ning nende võimalik mõju rajatud okaspuukultuuridele. Uuringute tulemusi on võimalik kasutada laialdaselt teiste metsakaitsealiste, fütopatoloogiliste ja entomoloogiliste uurimistööde baasuuringutena.

2. Rakendati innovaatilist DNA-põhist patogeenide määramist substraadist, taime- ja putuka kudetest, mis võimaldab anda operatiivseid hinnanguid kahjustusele ja selle ulatusele, kiirendades metsakaitsealiste tõrjeabinõude rakendamist ning mis vähendab ohtlike patogeenide levimise riske metsaökosüsteemis.

3. Selgitati, et raiesmikel liikuva männi- ja kuusekultuuride põhilised kahjurputukad – männikärsakad ja juureüraskid – on paljude patogeensete seente ja viiruste potentsiaalseteks levitajateks.

4. Baasuuringutega selgitati mitmete püretroid-, neonikotinoid- ja biopreparaatide ning toidutaimede ja pestitsiidide lõhnade mõju männikärsakate ning nende looduslike vaenlaste – röövtoiduliste jooksiklaste – käitumisele ja füsioloogiale.

5. Olulise tulemusena leiti, et neonikotinoid Actara 25 WG (toimeaine tiametoksaam) männikärsakatele repellentset (peletavat) mõju ei avalda, mistõttu selle preparaadiga eelnevalt töödeldud okaspuutaimed satuvad looduslikes tingimustes männikärsakate rüüste alla. Preparaadiga töödeldud taimedel toitudes kannavad aga männikärsakad preparaadi jääke loodusesse laiali, saastades sellega otseselt keskkonda ning viies neid ka biotoobi toiduahelasse. Preparaadi madalad ja üliväikesed doosid mõjutavad lülijalgsete põhikäitumismustreid ja kutsuvad esile häireid putukate füsioloogias, mis omakorda mõjutavad negatiivselt kasulike jooksiklaste populatsiooni metsa-ökosüsteemides.

6. Katsetulemustele toetudes võib väita, et efektiivsem ja keskkonnasäästlikum viis kaitsta okaspuukultuure putukkahjustuste eest on istutusmaterjali tüvekeste katmine kaitsevahaga. Pärast täiendavate katsete läbiviimist erinevate kaitsevahade ja insektsiidsete bioõlidega võib täielikult loobuda neonikotinoidpreparaatide kasutamisest Eesti riigimetsas ja taimlates. Ühtlasi vähendab vahade kasutamine keskkonnanariske ning langetab keemilise tõrje mõjust tulenevaid ohte metsa mitmekesisusele ja elurikkusele.

7.5 Hinnang täiendavate rakendusuuringute läbiviimiseks

Läbiviidud baas- ja rakendusuuringud ning saadud teaduskaalukad ja suure rakendusliku tähtsuse tulemused annavad aluse väita, et projekt on jätkusuutlik kõigis allteemades ning omab pikaajalist rakendus- ja uurimisperspektiivi. Rajatud katsekultuurid ja uurimisalad võimaldavad jätkata kahjustuste monitooringut ja elustiku-uuringuid erinevates metsabiotoopides. Väga oluline on jätkata eri koostisega bioloogiliste või sünteetiliste kaitsevahade uuringuid. Vajalik oleks teostada ka vahade ja insektsiidsete bioõlide metsakaitse rakendamise ökonoomiline analüüs.

7.6 Hinnang rakendusuuringuga rahastamistaotluses püstitatud eesmärkide täitmisele

Käesolev projekt oli kavandatud kompleksse uurimusena, mille eesmärk oli uurida erinevaid, kuid omavahel tihedalt seotud metsakaitsealisi, entomoloogilisi ja fütopatoloogilisi aspekte. Mitmete küsimuste lahendamiseks kitsamates valdkondades oli projekti kaasatud rohkesti eriala spetsialiste nii Tartu Ülikoolist kui ka Eesti Maaülikoolist, mis tagas sünergia uurimisrühmas ja saadud tulemuste kõrge kvaliteedi. Projekti edu võtmeks oli ka kraadiõppurite suur kaasatus. Projekti toel valmis üks doktoritöö, 7 magistritööd ja üks bakalaureusetöö. Kadi Kriisa bakalaureusetööd tunnustati 2014.a Eesti Vabariigi üliõpilastööde konkursil diplomiga. Projekti andmestiku põhjal valmivad 2016. a. üks doktoritöö ja kolm magistritööd. Projekti raames avaldati 8 teaduspublikatsiooni, neli populaarteaduslikku ülevaadet ning valmimas on kolm käsikirja. Kahel rahvusvahelisel erialakongressil esitleti saadud projektitulemusi kokku viie ettekandega. Uurimistulemused on olulise praktilise ja teadusliku tähtsusega ning kergesti ja kiiresti rakendatavad.

Kokkuvõtvalt võib öelda, et projekti raames läbi viidud tööde kaudu täideti rahastamistaotluses püstitatud põhieesmärgid.

8. PROJEKTIGA HAAKUVAD DOKTORI- JA MAGISTRITÖÖD:

Projektiga seotud teemadel kaitsti 2012–2015 kokku üks doktoritöö, 7 magistritööd ja üks bakalaureusetöö:

2012

Kivimägi, Irja. The effects of natural and anthropogenic factors on the physiological state of insects (doktoritöö). Juhendajad: **Ploomi, A.**, Metspalu, L.

2013

Blumberg, Kadi. Püretroidse insektitsiidi *Fastac 50EC* subletaalne toime üld- ja lokomotoorsele aktiivsusele süsi-ketasjooksikule (magistritöö). Juhendajad: **Merivee, E.**, Tooming, E.

Virnhoff, Kajari. Mõne taimeekstrakti mõju süsi-ketasjooksiku (*Platynus assimilis* Payk.) füsioloogilisele seisundile (magistritöö). Juhendajad: **Kivimägi, I.**, **Ploomi, A.**

2014

Rehema, Tiina. Mõne insektitsiidi toime ümarselg-süsijooksikule (*Pterostichus aethiops* Panz.) (magistritöö). Juhendajad: **Ploomi, A.**, **Kivimägi, I.**, **Sibul, I.**

Jakuš, Stefani. Püretroidi subletaalse doosiga korduvtöötlemise mõju süsi-ketasjooksiku lokomotoorsele aktiivsusele (magistritöö). Juhendajad: **Merivee, E.**, Tooming, E.

Kriisa, Kadi. Tööstuslikult toodetud biopestitsiidide mõju hariliku männikärsaka (*Hylobius abietis* L.) käitumisele (bakalaureusetöö). Juhendajad: **Sibul, I.**, **Kivimägi, I.**

Bakalaureusetööd tunnustati 2014.a Eesti Vabariigi Üliõpilastööde konkursil diplomiga.

2015

Pertman, Annika. Mõnede lenduvate ühendite mõju hariliku männikärsaka (*Hylobius abietis* (L.)) lokomotoorsele käitumisele (magistritöö). Juhendajad: **Sibul, I.**, **Kivimägi, I.**

Soovik, Kersti. Insektitsiidide mõju jooksiklaste lõhnaorienteerumisele (magistritöö). Juhendajad: **Ploomi, A.**, **Kivimägi, I.**, **Sibul, I.**

Sabas, Signe. *Phytophthora* spp. leidudest puudel ja veekogudes Eestis (magistritöö). Juhendajad: **Drenkhan, T.** **Drenkhan, R.**

2016. a. valmivad ja kaitstakse projekti andmestiku põhjal üks doktoritöö (**Tiia Drenkhan**) ja 3 magistritööd: **Riho Remmelgas** (TÜ), **Kristiina Aru** (EMÜ), **Elisabeth Rähn** (EMÜ).

9. PROJEKTI RAAMES AVALDATUD PUBLIKATSIOONID:

Tööga seotud ilmunud publikatsioonid:

1. **Drenkhan, T.**; Voolma, K.; **Adamson, K.**; **Sibul, I.**; **Drenkhan, R.** (2015a). *Diplodia sapinea* survive after passing through the digestive tract of *Hylobius abietis*. *Forest Pathology*, submitted
2. **Drenkhan, T.**; Kasanen, R.; Vainio J.E. (2015b). *Phlebiopsis gigantea* and associated viruses survive passing through the digestive tract of *Hylobius abietis*. *Biocontrol Science and Technology*, accepted, <http://dx.doi.org/10.1080/09583157.2015.1111998>
3. **Nurme, K.**; **Merivee, E.**; Must, A.; **Sibul, I.**; Muzzi, M.; Di Giulio, A.; Williams, I.; Tooming, E. (2015). Responses of the antennal bimodal hygrometric neurons to innocuous and noxious high temperatures in the carabid beetle, *Pterostichus oblongopunctatus*. *Journal of Insect Physiology*, 81, 1–13.
4. **Merivee, E.**; Tooming, E.; Must, A.; **Sibul, I.**; Williams, I. (2015). Low doses of the common alpha-cypermethrin insecticide affect behavioural thermoregulation of the non-targeted beneficial carabid beetle *Platynus assimilis* (Coleoptera:Carabidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 120, 286–294.

5. Tooming, E.; **Merivee, E.**; Must, A.; **Sibul, I.**; Williams, I. (2014). Sub-lethal effects of the neurotoxic pyrethroid insecticide *Fastac 50EC* on the general motor and locomotor activities of the non-targeted beneficial carabid beetle *Platynus assimilis* (Coleoptera: Carabidae). *Pest Management Science*, 70, 959–966.
6. **Drenkhan, T.**; **Sibul, I.**; Kasanen, R.; Vainio, E.J. (2013). Viruses of *Heterobasidion parviporum* persist within their fungal host during passage through the alimentary tract of *Hylobius abietis*. *Forest Pathology*, 43(4), 317–323.
7. **Kivimägi, I.**; Kuusik, A.; **Ploomi, A.**; Metspalu, L.; **Jõgar, K.**; Williams, I.H.; **Sibul, I.**; Hiiesaar, K.; Luik, A.; Mänd, M. (2013). Gas exchange patterns in *Platynus assimilis* (Coleoptera, Carabidae): Respiratory failure induced by a pyrethroid. *European Journal of Entomology*, 110, 47–54.
8. **Ploomi, A.**; **Kivimägi, I.**; Kruus, E.; **Sibul, I.**; **Jõgar, K.**; Hiiesaar, K.; Metspalu, L. (2012). Seasonal cold adaptation dynamics of some carabid beetle species: *Carabus granulatus*, *Pterostichus oblongopunctatus* and *Platynus assimilis*. *Forestry Studies*, 57, 90–96.
9. **Sibul, I.** (2015). Kaitsevahad – uus võimalus okaspuukultuuride kaitsmiseks männikärsaka kahjustuste eest. *Eesti Mets*, 4, xx–xx.
10. **Sibul, I.** (2015). Keskkonnasäästlik biovaha kaitseb puid männikärsaka eest. *Metsamees*, 3 (124), 37–40.
11. **Sibul, I.** (2014). Männikärsakad – metsauuenduse olulisimad kahjurid. *Metsamajandus*, [ajalehe Äripäev lisa], 4(8), 26–30.
12. **Sibul, I.** (2013). Männikärsakatõrje uued ohud ja võimalused. Niinepuu, J. (Toim.). Maamessi Aastaraamat-Kataloog 18.–20. aprill 2013 (47–49). AS Postimees.

10. Projekti juht (nimi): Ivar Sibul	Allkiri: (digitaalselt allkirjastatud)	Kuupäev: 25.09.2015
11. Taotleja esindaja kinnitus aruande õigsuse kohta (nimi, amet): Toomas Timmusk, direktor	Allkiri: (digitaalselt allkirjastatud)	Kuupäev: 25.09.2015

NB! Aruanne esitada elektrooniliselt e-posti aadressil: teadus@rmk.ee