

T 049650 sz. OTKA pályázat Zárójelentése

(2005. január 1. – 2009. június 30.)

Az egyedek fenotípusos rátermettségének alakulását nemcsak a gének befolyásolják, hanem a környezet is, amelyben az élőlény fejlődik. A **korai (embrionális) környezeti** hatások jelentősen befolyásolhatják a rátermettséget (Moussou and Fox 1998). A méhlepényes emlősökkel ellentétben, ahol a születés előtt szoros kapcsolat áll fenn a fejlődő embrió és a nőtény között, a madaraknál az embrió az anyától elválasztva, a tojásban fejlődik. Régóta ismert, bár vad populációkban kevésbé tanulmányozott folyamat, hogy a tojó **madár képes befolyásolni utódainak életkilátásait** a tojásba allokált anyagok révén (Schwabl 1993, Winkler 1993, Surai and Speake 1998, Mousseau and Fox 1998, Blount et al. 2000). A tojás életképessége alapvetően megszabja a szülők és egyben az utódok rátermettségét is. A különböző anyagokat a **tojó madár** juttatja a tojásba, ezért ezt a korai környezeti hatást **anyai vagy maternális hatásnak (részrehajlásnak)** nevezik. Több utód esetén az embriók egymástól elválasztva, külön tojásban fejlődnek, ami lehetővé teszi, hogy a tojó különbséget tegyen az anyag- és energiaallokáció során az utódok között.

Az anyai részrehajlás alábbi három területét kutatták részletesebben az utóbbi tizenöt évben (Williams 1994, Royle et al. 1999 Schwabl 1993 Surai and Speake 1998 Haq et al. 1996, Böhm et al. 1997 Naqi et al. 1983, Gratzik et al. 1994, Saino et al. 2002a,b):

- i) Ivararány manipuláció.
- ii) Makrotápanyagok (zsírok, fehérjék, kisebb mértékben szénhidrátok) mennyiségének manipulációja, mely a tojások és/vagy a sárgája méretének varianciájával könnyen közelíthető.
- iii) Kis koncentrációban is ható ún. „biomolekulák” (pl. **immunvédekezéssel kapcsolatos anyagok, stressz- és ivarihormonok, vitaminok, karotinoidok** ill. bizonyos elemek) mennyiségének manipulációja.

Háttérmagyarázatok az anyai részrehajlásra

Az intrapopulációs vizsgálatoknál a maternális preferenciához kapcsolódó **proximális és ultimális okok** tekintetében legalább három, egymást nem kizáró hipotézist kell megemlítenünk:

- i) A nőtény minőség hipotézis (NMH), melynek lényege: az egyedek közötti tojásminőség-varianciát (ivar, méret és speciális tartalom) a tojást előállító **tojó minősége** (kor, méret, tömeg stb.) **mint proximális faktor** szabja meg.
- ii) A hím minőség hipotézis („differenciális allokáció hipotézise”, DAH), melynek lényege: a nőtények **párjuk minőségétől, attraktivitásától függően különböző mértékben segíthetik utódaik jövőbeni kilátásait**. Az eredeti (Burley 1988) preferenciális (jobb minőségű pár nagyobb mértékű utódsegítést indukál) megközelítés mellé felvehetjük a párfüggő kompenzációt (rosszabb minőségű pár nagyobb mértékű utódsegítést indukál) is, valamint az eredetileg szociális párra vonatkozó megállapításokat kiterjeszthetjük a párba állás után, a párkapcsolaton kívüli párosodáskor választott (extrapár) hímre is.
- iii) A környezet minőség hipotézis (KMH), melynek lényege: a **környezet varianciája proximális okként** magyarázza a tojásminőség-variancia legnagyobb részét.

Jelen kutatás során az európai énekesek tipikus modellfajainak szabadföldi (örvös légykapó, szencinege, kék cinege) illetve egy Tyúkalkatú (japánfürg) laboratóriumi populációiban vizsgáltuk az anyai részrehajlás varianciájának rátermettség-hatásait. Korrelatív és manipulatív módszereket egyaránt használtunk a mintázatok megismeréséhez. Az eredeti célkitűzések mindegyikét megvalósítottuk, több-kevesebb sikerrel, és néhány új irány (tojáshéj, immunanyagok, ujjarány jelzés szerepe) vizsgálatát is elkezdjük, melyeket részleteiben csak az elkövetkező években fogunk

vizsgálni. A cikkekben megjelent eredményeket csak vázlatosan ismertetem, a nem publikált részeket kissé részletesebben.

Az eltérő tojáshormonszintek hatása a fiókák ivarára (I. téma)

Nem publikált eredmények

Schwabl (1996) kimutatta, hogy a nagyobb androgéntartalmú tojásokból származó fiókák fejlődése gyorsabb, és nagyobb kirepülési tömeget érnek el. A gyorsabban fejlődő fiókák agresszívebbek, táplálékkérő viselkedésük intenzívebb, ezért több táplálékhoz jutnak. A fentiekből prediktálhatjuk, hogy a több hím ivari hormont, tesztoszteront tartalmazó tojásokból hím ivarú egyedek fejlődhetnek.

Az utódok ivara és a tojás tesztoszteron-tartalma közötti kapcsolat vizsgálatához a populációból randomizált módon választottunk örvös légykapó fészekaljákat ($n=31$). A begyűjtött tojások genetikai apasági és ivarvizsgálatát 3 napi inkubáció után végeztük, ami lehetővé tette, hogy a sárgája tesztoszteron szintjét is meghatározzuk. A korrelatív analízisek (GLZ, binomiális eloszlás, logit modell) a következő eredményekre vezettek:

- i) Az idegen fiókák aránya (Wald stat. $p=0,712$) és a tesztoszteron (log) koncentráció (Wald stat. $p=0,225$) nem kapcsolódott a tojásrakás sorrendjéhez, bár az utóbbi növekvő értékeket mutatott a sorrenddel.
- ii) A fiókák ivara szignifikáns mintázatot mutatott a lerakott tojások sorrendjében (1. tojás nő jellegű, a 2., 5. és 6. tojás hím jellegű (Wald stat. $p=0,006$)).
- iii) A pár hím homlokfoltja nem befolyásolta a sorrendfüggő ivarmintázatot.
- iv) A korábbi vizsgálataink (Michl et al. 2002) alapján várt mintázatot nem kaptuk meg ezen az adatbázison, nevezetesen a pár hím homlokfoltja nem kapcsolódott az idegen fiókák sorrend szerinti megoszlásához (Wald stat. $p=0,1$).
- v) A tojások tesztoszteron koncentrációja nem magyarázta a tojások ivarát (Wald stat. $p=0,659$).

Összefoglalva azt mondhatjuk, hogy predikciónkkal ellentétben az ivar és a tesztoszteron szint nem mutat kapcsolatot és az idegen fiókák hormonszintje sem tért el a szociális hím-től származó fiókák hormonszintjétől. Az eredményeket még nem sikerült publikálnunk, melyben a saját hibáink mellett nagy szerepe lehet annak is, hogy csak negatív eredményeket kaptunk.

A tojásméret szerepe az anyai részrehajlásban (I. II. III. IV. témához kapcsolódó vizsgálat)

Korrelatív megközelítések

(Hargitai, R., Török, J., Tóth, L., Hegyi, G., Rosivall, B., Szigeti, B. and Szöllösi, E. 2005: Effects of environmental conditions and parental quality on the inter- and intraclutch egg size variation in the collared flycatcher (*Ficedula albicollis*). *Auk* 122: 509-522.)

A tojásméret az egyik legegyszerűbben mérhető változó, ami a tojások minőségét jellemezheti. Az **örvös légykapónál** végzett több évre (336 fészekalj 2110 tojására) kiterjedő vizsgálataink szerint a tojásméret **fészkek közötti** (ANCOVA: $F_{7,328}=13,99$; $p<0,001$) és **fészken belüli** ($F_{32,1324}=3,11$; $p<0,001$) **varianciája igen jelentős**. A madarak érkezésekor (április második fele, 14 napos intervallum) mért átlagos napi hőmérséklet alapján meleg (kedvező) és hideg (kedvezőtlen) éveket lehetett elkülöníteni. A **kedvezőtlen években a tojásméret kisebb volt, mint a kedvező években** ($F_{1,334}=12,99$; $p<0,001$). A fészekaljméretnek ($F_{2,332}=0,54$; NS) nem, a költéskezdsnek ($F_{1,326}=5,90$; $p=0,016$) viszont szignifikáns hatása volt tojásméretre. Ha a költéskezds mellé a napi átlagos hőmérsékletet (mint kováltozót) is bevettük a modellbe a költéskezds hatása megszűnt (parciális $R=0,07$; $F_{1,325}=1,45$; NS), és csak az **átlagos napi hőmérséklet hatott** (parciális $R=0,21$; $F_{1,331}=15,63$; $p=0,001$). A **hím tollazati és morfológiai**

bélyegei nem magyarázták szignifikánsan a tojásméret varianciáját, ugyanakkor a **tojó madarak kondíciója szignifikáns kapcsolatot mutatott a tojásmérettel**. Sem a tojók kora (kétutas ANOVA: év és kor a faktorok, $F_{1,48}=0,009$; NS), sem a hímek kora ($F_{1,112}=0,28$; NS) nem kapcsolódott a tojásméret-varianciához.

A fészekaljon belüli mintázatot tekintve **jó években a tojók növelték a tojások méretét a lerakás sorrendjében** (ismételt mérés ANOVA év*tojássorrend interakció: $F_{4,1336}=8,87$; $p<0,001$, év, mint faktor: $F_{4,344}=25,65$; $p<0,001$). A **mintázatot nem befolyásolta** a tojók kora és kondíciója, sem a **hím tollazati vagy morfológiai bélyegei**. A fészekaljon belüli növekvő tojásméret felveti annak lehetőségét, hogy a tojók az aszinkron kelés következtében később kelő kisebb fiókák hátrányát kompenzálják a többlettápanyagokkal. Az előző évek vizsgálatait felhasználva részletesen elemeztük a fiókák növekedését, és adatainkkal alátámasztottuk a szülői kompenzáció lehetőségét (Rosivall et al. 2005). A költséskedés (interakció a tojássorrenddel $F_{4,1304}=0,81$; NS), a hőmérséklet (interakció: $F_{4,1304}=1,65$; NS) és a fészekaljnagyság (interakció: $F_{8,1328}=0,35$; NS) nem befolyásolta a mintázatot.

Szexuál-szteroidok szerepe az anyai részrehajlásban (II. és IV. téma)

Korrelatív megközelítések

(Michl, G., Török, J., Péczely, P., Garamszegi, L.Z. and Schwabl, H. 2005: Female collared flycatchers adjust yolk testosterone to male age, but not to attractiveness. *Behavioral Ecology* 16: 383-388.)

A preferenciális DAH jóslása szerint az örvös légykapó tojóknak több androgén hormont kellene juttatniuk a tojásokba, amikor párjuk jó minőségű és/vagy attraktívabb. 25 fészek adatai alapján a tojássárgája tesztoszteron-koncentrációja nem variált a tojók szociális párjának ivari szignáljaival, sem a fehér homlokfolt, sem a fehér szárnyfolt méretével. A fészekaljon belüli varianciát nem magyarázta a tojások lerakásának sorrendje, és a sorrendtől való függetlensége nem módosult a hímek homlokfoltjának nagysága szerint. Az adott évben később költő tojók tojásainak hormonszintje magasabb volt. Ugyanakkor a fiatal, szubadult hímekkel párba álló tojók átlagosan több tesztoszteront (koncentráció és tartalom alapján is, tartalomra vonatkozó analízisek nincsenek bemutatva) juttattak a tojásokba. A hazai populációban, hasonlóan az északiakhoz, a fiatal hímek általában később kezdenek költeni. Ha az analízisekben kováltozóként szerepelt a költséskedés, akkor is erős korhatás mutatkozott a tesztoszteronszintekben. A tojások tesztoszteronszintje nem függött a tojók fenotípusától (csüd hossz, testtömeg, szárnyhossz) és korától.

Publikálás alatt lévő eredmények

A tojás androgének természetes mintázata és fejlődési korrelátumai

24 random választott örvös légykapó fészekaljnál még az inkubáció megkezdése előtt az összes tojásból biopsziára alkalmas manipulátorral kis mennyiségű mintát (max. 10 mg) vettünk. A mintázott tojásokat a kotlás utolsó napján keltetőgépbe helyeztük, és a kikelő fiókák tojáshoz tartozását pontosan azonosítottuk. A kikelt fiókákat egyedileg megjelöltük, majd a származási fészkekkel azonos időpontban kelő másik fészekbe szállítottuk. Ez a fiókacsere lehetővé tette, hogy a tojáson keresztüli illetve genetikai hatásokat elválasszuk a neveltetési hatásoktól. A cserélt fészekaljak tömegét kirepülős korig kétnaponta mértük. A szülőmadarakat etetés közben megfogtuk, méretüket, fehér tollazati díszek méretét és tollazatuk színezetét (spektrofotométerrel) számszerűsítettük. A fiókáktól vért vettünk az ivar meghatározása céljából. A tojás biopsziákból prof. Ton Groothuis laboratóriumában (Groningen, Hollandia) meghatározásra került a tesztoszteron (T) és az androszténdion (A4) koncentrációja. Elővizsgálatokban megtudtuk, hogy a dihidrotesztoszteron (DHT) mennyisége a vizsgált populációban elhanyagolható, ezért ezzel a hormonnal tovább nem foglalkoztunk. A kísérletes fiókák ivarának meghatározása még folyamatban van. Mivel a vizsgált populációban a hím és tojók fiókák eltérően növekednek, a növekedés mintázatait jelenleg még nem tudjuk megbízhatóan elemezni, azonban a hormonok alapvető mintázatait ismertettük.

A hormonszintek repetabilitása fészekaljon belül szignifikáns, de viszonylag alacsony volt (intraclass correlation (SE) tojástömeg: 0,79 (0,06), T: 0,15 (0,08), A4: 0,20 (0,09)). A variációs koefficiens (CV) a T-re nagyobb volt, mint az A4-re vagy a tojástömegre (tojástömeg: 0,075, T: 0,149, A4: 0,066). Főkomponens analízisek megmutatták, hogy a két hormon és a tojástömeg összefüggései fészekaljak közt és fészekaljon belül eltérnek. **Fészekaljak között** a változás fő iránya a T és A4 koncentrációk párhuzamos mozgása és a tojástömeg ezzel ellentétes mozgása (factor loading értékek T: 0,75, A4: 0,75, tojástömeg: -0,82). A második uralkodó irány a T és A4 egymással ellentétes mozgása (factor loading értékek T: -0,57, A4: 0,60, tojástömeg: 0,02). **Fészekaljon belül** a változás fő iránya a T és A4 azonos irányú mozgása (T: 0,79, A4: 0,81, tojástömeg: -0,08), a második fő irány a tojástömeg hormonoktól független változása (T: 0,23, A4: -0,13, tojástömeg: 0,98), míg a harmadik fő irány a két hormon egymással ellentétes mozgása (T: -0,56, A4: 0,57, tojástömeg -0,21). A két androgén korrelációja alacsony mind fészekaljak között ($r = 0,32$), mind fészekaljon belül ($r = 0,29$). Ez és a fenti főkomponensek is megmutatják, hogy funkcionális jelentőséggel bírhat nemcsak a két hormon párhuzamos változása, hanem az arányuk is. Fészekaljak között az apai színezet egyes komponensei összefüggtek a tojások hormonösszetételével. A **T koncentráció pozitívan korrelált a hím szárnyfoltjának méretével** ($r = 0,5$, $p=0,001$), míg a **T/A4 arány (2. főkomponens) pozitív összefüggést mutatott a hím tollazatának UV visszaverésével** ($r = 0,59$, $p=0,001$). Végül fészekaljon belül a **tojások lerakásának sorrendjével a tojástömeg nőtt**, de a hormonok koncentrációi és aránya nem változtak (főkomponens értékek elemzése).

Ezen adatok alapján a fiókák ivarának megismerése után az alábbi kérdésekre fogunk választ keresni.

- 1) Összefügg-e a fiókák fejlődése a tojás androgének koncentrációjával és arányával?
- 2) Függ-e a tojásandrogének fejlődési hatása a fióka ivarától, kelési sorrendjétől, illetve a szülők egyedi minőségétől (tollazati jelzések alapján)?
- 3) Összhangban van-e a szülői bélyegek fiókafejlődési hatása azzal, ahogy a tojók a fiókafejlődésre ható tojás hormonokat a szülői bélyegekhez igazítják? Más szóval, adaptív-e ebből a szempontból a tojások androgénszintje?

Kísérletes megközelítések

(Hegyí, G. and Schwabl, H. 2009: Do different yolk androgen hormones exert similar effects on the morphology or behaviour of Japanese quail hatchlings (*Coturnix japonica*)? *Journal of Avian Biology*, in press)

A tojásban található androgén hormonok specifikus hatásai

A tojássárgájában található androgénekkal kapcsolatban általánosan elterjedt vélemény, hogy szerepük a fiókák kelés előtti és kelés utáni fejlődésének elősegítése. A tényleges kutatási eredmények azonban nem rajzolnak ki ilyen egyértelmű képet. A megfigyeléses vizsgálatokban az androgének alapvető háttérváltozókkal, mint az ivar vagy a tojássorrend, különböző irányú és erősségű összefüggéseket mutattak. A tojás hormonszintjét kísérletesen manipuláló vizsgálatok szintén hol pozitív, hol negatív hatásokat detektáltak az utódokra. Az eredményeknek kétféle magyarázata lehetséges. Egyrészt, a tojásban található androgének hatása és szerepe fajok és populációk között eltérhet. Másrészt, talán a vizsgálatok voltak hiányosak. Az utóbbi kritika biztosan igaz, mivel a tojásban található három androgén hormon (T, A4, DHT) közül a kutatók többsége, velünk egyetemben, csak egyet vagy kettőt vizsgált, a hormonszint-manipulációk pedig vagy a T, vagy a T+A4 szinteket emelték meg. Mivel a három hormon metabolizmusa és így potenciális hatása is eltér, valamint relatív mennyiségük fajok között és fajon belül is változik, mindhármuk együttes vizsgálata sürgetőnek tűnik.

A három tojásandrogén kísérletes manipulációja laboratóriumi populációban

Ezt a kísérletet a Washington State University-n végeztük. Tenyésztőtől származó friss japánfürg (*Coturnix japonica*) tojások sárgájába infúziós tű és műanyag fecskendő segítségével a

három hormon egyikét vagy hordozóanyagot juttattunk. A dóziseket úgy választottuk meg, hogy a manipuláció jelentős, de még a természetes tartományon belüli változást okozzon. A tojásokat keltetőgépben keltettük, pontos kelési idejüket megfigyeltük, majd a fiókákat csoportokban neveltük. Átlagosan kétnapos korban izolációs tesztben vizsgáltuk a madarak viselkedését, míg átlagosan háromnapos korban morfológiai méréseket végeztünk. A viselkedési változókat főkomponens analízissel két mérőszámra egyesítettük, amelyeket csoportkereső viselkedésként és félelmi reakcióként értelmeztünk.

A keléssiker és kelési idő nem tért el a kezelések között. **A testtömeg és a szkeletális méret korai növekedését a T kezelés erősen lelassította**, szinte blokkolta a többi csoporthoz képest. **A csoportkeresési viselkedést az A4 és DHT injekciók serkentették** a kontrollhoz képest, míg a T hatása hasonló, de gyengébb volt. Az eredmények azt sejtetik, hogy a különböző androgének hatása és így lehetséges szerepe is különböző lehet a tojásban. Azoknál a fajoknál, ahol az A4 mennyisége nagyságrendekkel meghaladja a többi androgénét, elképzelhető, hogy a tojók az A4 szinteket állítják be környezetüknek és állapotuknak megfelelően, a T és DHT pedig az A4-ből szintetizálódnak az embrió enzimek segítségével. Ez előnyösnek tűnhet, ha a nagy mennyiségű, tartósan jelenlévő T számos lehetséges negatív hatására gondolunk. Vizsgálatunk azt sugallja, hogy a három hormon szerepének további kutatására van szükség, mielőtt a tojás androgének szerepéről általános következtetéseket vonnánk le.

A karotinoidok és vitaminok szerepe az anyai részrehajlásban (III. és IV. téma)

Korrelatív megközelítések

(Hargitai, R., Matus, Z., Hegyi, G., Michl, G., Tóth, G. and Török, J. 2006: Antioxidants in the egg yolk of a passerine: differences between breeding seasons. *Comparativ Biochemistry and Physiology Part B* 143: 145-152.

Hargitai, R., Matus, Z., Tóth, Gy. and Török, J. 2005: Male age and laying order affects yolk β -carotene concentration in the collared flycatcher. Ref# 285. 29th Int. Ethol. Cong. (Budapest, Magyarország)

Török, J., Hargitai, R., Hegyi, G., Matus, Z., Michl, G., Péczely, P., Rosivall, B. and Tóth, G. 2007: Carotenoids in the egg yolks of collared flycatchers (*Ficedula albicollis*) in relation to parental quality, environmental factors and laying order. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61: 541-550.)

A rovarévé énekesmadarak számára a karotinoidok felvétele csak közvetetten lehetséges, ezért feltételezhetően a felvétel költsége magasabb, mint más fajoknál. Emiatt ezek a madarak rendkívül alkalmasak a karotinoidelérhetőség hatásának vizsgálatára.

A vizsgálatokba bevont szén- és kék cinegék valamint örvös légykapók fő tápláléktípusa a lombfogyasztó Lepidoptera lárvák, melyek a karotinpigmenteket a levéllemezek rágása révén veszik fel. E tápláléktípus abundanciája jelentősen változhat a szaporodási periódusok között, illetve egyetlen szezonon belül is, ami felveti a költés időzítésének fontosságát. A rezidens cinegék és a hosszú távú vonuló légykapók eltérő életmenetet mutatnak. Feltételezhető, hogy a karotinoidelérhetőség limitáltsága miatt intra- (esetleg inter-) specifikus versengés alakul ki az egyedek között, ezért a költő párok denzitása befolyásolhatja a pigment felvételt.

HPLC analízisek segítségével az örvös légykapók tojásaiból hét fontosabb karotinvegyületet mutattunk ki. Négy másik karotinvegyület is meghatározásra került, de ezek szerkezeti azonosítását még nem sikerült elvégezni (ismeretlen 1: feltehetően hipofil karotinok elegye, ismeretlen 2: ketolutein; ismeretlen 3: kantaxantin-származék; ismeretlen 4: nem ismert vegyület). A **dominálo karotintípus a lutein** volt, a tojások karotintartalmának a 67,4 - 75,2%-át tette ki. A vizsgálati években a tojások karotinkoncentrációja eltérő volt. A többi összetevő is jelentős évfüggő variációt mutatott. A jelentősebb karotinok (lutein, cisz-lutein, β -karotin és zeaxantin) koncentrációja korrelált egymással. A karotinoidok mellett az **E-vitamin** koncentrációját is becsültük, amely **pozitívan korrelált az összkarotin-koncentrációval, viszont nem mutatott kapcsolatot az A-vitamin koncentrációjával**. Az A-vitamin egyes években korrelált az összkarotinmennyiséggel. A tojásméret és a tojászám sem mutatott kapcsolatot az összkarotin, az A- és az E-vitamin mennyiségével. A **tojások lerakásának sorrendjével nőtt a β -karotin-koncentráció**. Az utolsó tojás kb. 50%-kal több β -karotint tartalmazott, mint az első tojás. A többi összetevő nem mutatott

kapcsolatot a tojássorrenddel, bár megjegyzendő, hogy az **összkarotinoid mennyisége is nőtt közel szignifikáns mértékben az utolsó tojásnál**, az előtte lévőhöz képest.

Az örvös légykapóktól (és a két cinegefajtól) gyűjtött minták karotin- és vitaminkoncentrációjának meghatározása jelenleg is folyamatban van. A határozások időigényesek, ezért számos elemzésben a tojások sárgájának sárga/vörös árnyalatát (standard színskála alapján) használtuk. A tojások sárgájának színezete, hasonlóan más fajokhoz (Alonso-Alvarez et al. 2004) jelezheti a tojás karotinoidtartalmát (Blount et al. 2000). A lutein (sárga színű karotinoidvegyület) és a narancs/vörös színű karotinoidvegyületek magasabb koncentrációja a sárgája színezetét a vöröses tartományok felé tolja el (Fletcher 1980). A fentiekre alapozva, a tojás sárgája színezetének becslésével következtethetünk a tojások karotinoidkoncentrációjára. Minél vörösebb a sárgája, annál magasabb a karotinoidkoncentráció és/vagy a vörös színezetű vegyületek aránya.

Az örvös légykapónál a tojás tesztoszterontartalmához hasonlóan a karotinoid alapú sárgaság alapján is **elvethető, hogy a tojók párjuk homlokfolt mérete alapján variálják a bioaktív anyagot tojásba juttatását**. Ugyanakkor a tesztoszteronnál tapasztaltakhoz hasonlóan a **hímek korától függött a tojások sárgasága**. A TMH predikciója szerint a tojó minősége az elsődleges meghatározó a tojás minősége szempontjából. Vizsgálataink nem támasztották alá ezt a predikciót: nem találtunk kapcsolatot a tojóra jellemző morfológiai változók, valamint a koruk és a karotinoidok koncentrációja között.

(További részletek a fenti cikkekben találhatók.)

(Szigeti, B., Török, J., Hegyi, G., Rosivall, B., Hargitai, R., Szöllösi, E. and Michl, G. 2007: Egg quality and parental ornamentation in the blue tit. *Journal of Avian Biology* 38: 105-112.)

A kék cinegénél ismert, hogy a kék fejtető UV reflektanciája fontos szignál az ivari kiválasztódásban (Andersson et al. 1998, Hunt et al. 1998) így a DAH alapján feltételezhetjük, hogy a tojók több utódsegítő bioaktív karotinoidot juttatnak a tojásokba, ha párjuk UV színezete erőteljesebb. Ellentétben a széncinegével, ahol a hím ivari szignál nem magyarázta a karotindepozíció varianciáját, a **kék cinegénél pozitív kapcsolatot találtunk a szignál (UV reflektancia) és a tojásszík sárgasága között**. Ugyanakkor a hím melltollainak sárgasága nem mutatott kapcsolatot a szíksárgaságával. Nem találtunk kapcsolatot a hímek kora és a tojások sárgasága között. A tojók morfológiai és tollazati bélyegei, és a hímek csüd hossza és testtömege nem mutattak szignifikáns kapcsolatot a tojás sárgájának karotinoid alapú színezetével. A morfológiai és tollazati bélyegek alapján asszortatív párválasztás ebben az esetben nem volt kimutatható.

(Lakatos, A., Föző, R., Hegyi, G. és Török, J. 2008: Tollazati szignálok és anyai hatás vizsgálata széncinegénél (*Parus major*). *Állattani Közlemények* 93(1) 17-28.)

Ismert, hogy a **széncinegetojások** fő karotinoid pigmentjei a lutein és a zeaxanthin (Dufva and Allander 1995, Hörak et al. 2002), melyek a hímek és a tojók sárga színezetű tollaiban is megtalálhatók. A pilisi populációban 57 fészeknél mértük a szülők morfológiai és tollazati tulajdonságait, és a fészekaljnak első három tojását begyűjtve azok méretét és sárgájának színezetét mértük.

A **széncinegékkel** végzett elemzéseink három koncepcionális pillérre épültek.

- i) A szaporodás költséges, ezért többször szaporodó fajok egyedei saját minőségük és állapotuk, illetve a környezet minőségének függvényében optimális kompromisszumra törekednek jelenlegi szaporodási befektetésük, valamint túlélési és jövőbeli szaporodási esélyük közt.
- ii) A szexuális szelekcióban szerepet játszó jelzések vizsgálata. A jelzések olyan viselkedési vagy külső morfológiai bélyegek, amelyek megmutatják az egyed genetikai vagy fenotípusos minőségét, állapotát, és így megkönnyítik a többi egyed számára, hogy szaporodási stratégiájukat ennek megfelelően hangolják.

iii) Az előző két koncepció találkozását jelenti a differenciális allokáció, amikor is az egyedek a partnerük minőségét jelző bélyegekhez igazítják a jelenlegi szaporodásba történő befektetésüket.

Vizsgálatainkban arra voltunk kíváncsiak, hogy a széncinegék elsődleges, tojásokba történő szaporodási befektetése milyen összefüggést mutat a tojó és a hím egyedi minőségével. Két évben vizsgáldtunk, amelyek egyike viszonylag kedvező táplálékkinálattal volt, a másik viszont rendkívül rossz időjárású. Az eddigi vizsgálatok során legtöbbször egy adott befektetési irány került górcső alá, az egyedi minőség többféle mércéjének együttes figyelembe vételét pedig nagy mértékben zavarták a sok, részben korreláló mérőszámból eredő statisztikai, értelmezési nehézségek. Mi ezért **megpróbáltuk integráltan vizsgálni az egyedi minőség és a szaporodási befektetés dimenzióit.**

A széncinege minőségének morfológiai indikátorai közül a testtömeget, a testméretet és a fekete melanin színezetű hassáv méretét, a színezeti indikátorok közül pedig a karotinoid tartalmú sárga melltollak színét, illetve a fekete fejtető melanintartalma és tollszerkezete által kialakított színezeti tulajdonságait vettük figyelembe. A színváltozókat objektív módszerrel, spektrofotométerrel mért adatokból számoltuk. A szaporodási befektetés mércéi a tojások száma, az első három tojás mérete, sárgájának tömege és a színezet alapján becsült karotinoidtartalma volt. Az **ivaronkénti morfológia és színezet, valamint a szaporodási befektetés jellemzőit külön főkomponens analízisben szintetizáltuk**, hogy megtaláljuk együttes változásuk fő irányait, és ezen irányokat hozhassuk összefüggésbe egymással.

A morfológia a tojóknál és a hímeknél is két fő változási irányt mutatott, az egyik a testméretet és testtömeget, a másik a hassávméret varianciakomponensét jelentette. A tojók színezetének két főkomponense a fejtető illetve a sárga mell színezetét számszerűsítette, míg a hímek hasonló analízise a fej és a mell színezetének egy szintetikus mércéjét, valamint a fejtető UV színezetének mérőszámát eredményezte. **A tojásokba történő befektetés első főkomponens tengelye negatívan korrelált a tojásszámmal, de pozitívan a tojásmérettel és a sárgája méretével.** A sárgája karotinoidtartalma a többi változóval egyáltalán nem korreláló külön tengelyt adott, így ezt független változóként elemeztük.

Az eredmények a következőket sugallják.

Egyrészt, a **jobb kondíciójú, nagyobb tojók nagyobb, de kevesebb tojást raknak (utódok mérete és száma közötti trade-off).** Másrészt, **jó évben a tojók a fejen erős UV színezetet mutató hímeknek is kevesebb, de nagyobb tojást raknak.** Harmadrészt, a **sárgább mellű, valószínűleg jobb szülői minőségű tojók a karotinoidokat jó évben inkább a szaporodásba (a tojásokba) irányítják, míg rossz évben inkább „megtartják” azokat saját túlélésük és jövőbeni szaporodásuk elősegítésére.** Eredményeink rámutatnak az egyedi minőség és a szaporodási befektetés szintetikus megközelítésének előnyeire, valamint felhívják a figyelmet a **differenciális allokáció környezetfüggésére és a különböző befektetési komponensek negatív összefüggéséből eredő allokációs korlátok jelentőségére.**

Kísérletes megközelítések (II/3., IV. téma)

(Hargitai, R., Arnold, K.E. Herényi, M., Prechl, J and Török, J. 2009: Effects of social environment and maternal health state on egg composition in the collared flycatcher (*Ficedula albicollis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 63: 869-882.)

A szociális környezet maternális allokációt befolyásoló hatását kísérletesen vizsgáltuk örvös légykapókon. A szociális környezet fontos komponense a denzitás és annak egy speciális összetevője, az azonos ivarú egyedek száma, melynek növekedése az egyedek közötti konfliktusokat teheti gyakoribbá. Vizsgálatunkban random kiválasztott örvös légykapó pároknál (n=8) a tojó fertilitási periódusában a fészekodúhoz közel, kalitkában egy fertilis tojómadarat helyezünk el 2x 1,5 órára, és figyeltük a rezidens madár reakcióját. A fészekaljából két tojást begyűjtöttünk. A vizsgálatokat párhuzamosan egy kontroll (üres kalitka) csoporttal is elvégeztük. A begyűjtött tojások tesztoszteronszintjének meghatározása folyamatban van. Eredményeink szerint a

légykapó tojók több időt töltenek fészüknél a betolakodó tojó jelenlétében, tojásaikban a sárgája mérete kisebb, viszont a tojások tesztoszteronkoncentrációja magasabb. Azt is kimutattuk, hogy a költési denzitás nem hatott a tojások tesztoszteronkoncentrációjára. A betolakodó tojók (kalitkában kifüggesztett fertilis tojó), potenciális másodlagos tojóként jelenhetnek meg, csökkentve a hímek gondozó tevékenységét az elsődleges fészeknél. Ebben az esetben az elsődleges tojók által a tojásokba juttatott nagyobb tesztoszteronszint egy adaptív viselkedés eredményeként jelentkezhet. A tojás tesztoszteronszintje növeli a fiókák kéregető viselkedésének intenzitását, így a pár hím gondozó viselkedése fokozottabb lesz az elsődleges fészeknél, miáltal a költés sikeressége nőhet. A szociális környezet tehát módosíthatja a tojások szteroid hormon- és tápanyagtartalmát, ami a fiókák későbbi fejlődésére és túlélésére is hatással lehet. Ugyanakkor a kísérletekben nem tudtuk kimutatni, hogy a szociális környezet megváltozása hatással lenne a tojások karotinoid- és immunglobulin-koncentrációjára. Eredményeink szerint csak a jó fiziológiai kondíciójú (vérplazma karotinoidszintjével és H/L aránnyal jellemezett) tojók képesek nagyobb mennyiségű bioaktív anyagot juttatni tojásaikba. (További részletek a fenti cikkben találhatóak.)

Kiegészítések

Az anyai részrehajláshoz kapcsolódó olyan eredményeink, melyek a célkitűzésekben még nem szerepeltek explicit módon. Ezek a témák a kutatási folyamat során kerültek előtérbe, egyesek segítettek a kapott mintázatok megértésében, másokat éppen az alternatív lehetőségek kapcsán kellett vizsgálnunk.

1) Előkísérlet az ivari hormonok fiókanövekedést befolyásoló hatásának vizsgálatához

Zebra-pintyek laboratóriumi populációjában vizsgáltuk a tojásba injektált (fiziológiai tartományon belüli) tesztoszteron mennyiségének embrió-túlélésre, kikelési sikerre, kelési tömegre és kirepülési tömegre gyakorolt hatását. A kísérlet célja a tojásoltás technikájának a kidolgozása volt. Kifejlesztettünk egy oltókészüléket, melyhez egy speciális kialakítású Hamilton-fecskendővel kapcsolva rutinszerűen és nagy pontossággal sikerült a pintytojások kb 5 mm átmérőjű sárgájába bejuttatni az oltóanyagot. 600 pg tesztoszteront oldottunk 3µl steril szezámolajban a kezelt tojásokba ez került, a kontroll tojásokba csak 3µl steril szezámolajat oltottunk. Összesen 61 tojást kezeltünk, 30 tesztoszteront és 31 kontrollt.

Az oltást túlélő embriók aránya 66,7% és 42 % volt (kezelt ill. kontroll), az ezekből kikelt fiókák aránya 90% ill. 85% volt (oltott tojásokra vetítve 60% ill. 32%). A tesztoszteronnal kezelt fiókák kelési tömege (gramban mérve $x = 0,77$, $SD = 0,11$) és kirepülési tömege ($x = 13,75$, $SD = 1,19$) is szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontrollesoporté ($x = 0,72$, $SD = 0,05$, $x = 11,1$, $SD = 0,89$).

Az előkísérlet sikeresnek értékelhető, mert az általunk elért kelési siker megegyezett más vizsgálatokban kapott értékkel.

2) Szabadföldi előkísérlet az ivari hormonok fiókanövekedést befolyásoló hatásának vizsgálatához

2008-ban az örvös légykapó természetes populációjában folytattuk a vizsgálatokat. Azonos napon kezdett fészkek közül random módon választottunk ki triókat, melyek közül az egyik fészket tojásait tesztoszteronnal (6,4 ng 4µl szezámolajban oldva), a másikat ösztadiollal (1 ng 4µl szezámolajban oldva), a harmadikét szezámolajjal (4µl, kontroll) oltottuk be. A költési periódus első harmadában összesen 16 triót vontunk be a kísérletbe. A kelés után kétnaponként mértük a fiókák tömegfejlődését. A fiókák ivarának meghatározása folyamatban van, az ivarfüggő növekedés miatt az adatok statisztikai kiértékelése csak az ivarok ismeretében lesz lehetséges.

3) Az anyai hatások kiiktatásával kísérletesen vizsgáltuk a kompenzációs fiókafejlődés mintázatát

(Hegyí, G. and Török, J. 2007: Developmental plasticity in a passerine bird: an experiment with collared flycatchers *Ficedula albicollis*. *Journal of Avian Biology* 38: 327-334.)

Az anyai részrehajlás rátermettséget befolyásoló hatását csak a propagulumok fejlődésének nyomon követésével érthetjük meg, ezért a fiókák növekedésének/fejlődésének környezet függő mintázatait pontosan kell ismernünk. Egy korábbi vizsgálatunkban (Rosivall et al 2005) korrelatív megközelítést alkalmazva vizsgáltuk az aszinkron kelő fiókák növekedésének jellegzetességeit és a kompenzációs növekedést. Ebben a kísérletünkben a kompenzációs növekedési potenciál fióka szempontú oldalát próbáltuk leírni, miközben kontrolláltunk az anyai és az eredet hatásokra (fészekaljcserékkel). A fiókák tömegnövekedésükben képesek voltak kompenzálni a táplálékhiányos periódus káros hatásait, de szkeletális (csúdhossz) fejlődésükben nem.

3) Immunanyagok és az anyai részrehajlás

(Hargitai, R., Prechl, J., and Török, J. 2006: Maternal immunoglobulin concentration in Collared Flycatcher (*Ficedula albicollis*) eggs in relation to parental quality and laying order. *Functional Ecology* 20: 829-838.)

Eredményeink alapján az örvös légykapó tojássárgájában lévő **anyai eredetű immunglobulinok koncentrációja összefüggött a tojó kondíciójával, az anya kora vagy testmérete viszont nem befolyásolta** azt. Külföldi eredményekkel összhangban a sárgájában található immunglobulinok koncentrációja és a tojó vérplazmájának immunglobulinszintje között pozitív korreláció volt. Nem sikerült bizonyítékot találnunk arra, hogy a tojók a hím tulajdonságainak függvényében módosítanak a sárgája immunglobulin-koncentrációját. Ennél a fajnál tehát nem lehetett alátámasztani az immunglobulinok differenciális allokációját (DHA). A tojások immunglobulin-koncentrációja nem függött össze a tojásszámmal, ami arra utalhat, hogy a több tojást rakó tojók fokozottabb mértékben termeltek immunglobulinokat, hogy kielégítsék a nagyobb fészekalj szükségletét.

Az antitestek termelése és petesejtbe juttatása jelentős mennyiségű tápanyag-, illetve antitestvesztést jelent a tojó számára, ugyanis minden egyes tojás a tojó normál immunglobulinszintjének kb 10-20%-át tartalmazza. A tojó úgy ellensúlyozhatja ezt a veszteséget, hogy a tojásképzés időszakában fokozza az antitestek termelését. Az anyai immunrendszer intenzívebb működése azonban költséggel járhat, hiszen különböző tápanyagokra és ásványi anyagokra van hozzá szükség. Ennek következtében, nagy mennyiségű immunglobulin előállítására és tojásba juttatására kizárólag a jó kondícióban lévő tojók lehetnek képesek, mivel ők több energiát vonhatnak el az öfenntartásból anélkül, hogy rontanák a sikeres fiókanevelés esélyét.

4) Ujjarányok és az anyai részrehajlás

(Garamszegi, L.Z., Hegyi, G., Szöllösi, E., Rosivall, B., Török, J., Eens, M. and Møller, A.P. 2007: Phenotypic correlates of digit ratio in a wild bird: implications for the study of maternal effects. *Animal Behaviour* 74: 641-647. Nagy, G., Hegyi, G. és Török, J. 2006: Ujjarány és életmenet. Összefoglalók 153., 7. Magyar Ökológus Kongresszus (Budapest))

Humán vizsgálatokból részletesen ismert, hogy a 2. és a 4. kézuji hossza (ill. aránya) mint fenotípusos morfológiai bélyeg erős korrelációt mutat számos személyiségjeggyel. A kapcsolat hátterében feltehetően az endokrin rendszer működésének variációja sejthető. Más vizsgálatokból ismert, hogy a tesztoszteronkoncentráció emelkedése erősen hat a 4. ujj növekedésére az embrionális fázis alatt, ugyakkor az is ismert, hogy a női nemi hormonok a 2. ujj növekedését stimulálják.

Az anyai befektetésekkel kapcsolatos vizsgálatainkból az derült ki, hogy azok a tojók, melyek fiatal hímmel állnak párba, több tesztoszteront juttatnak a tojásokba, mint azok, akiknek idősebb a

szociális párjuk. Korrelatív megközelítést alkalmazva több éve vizsgáljuk, hogy az örvös légykapónál talált korfüggő androgéndepozíció fenotípusosan megjelenik-e a kifejlett madaraknál.

Az eddigi eredmények alapján nem kaptuk meg a várt mintázatot. A **fiatal és idős hímek fészekaljaiból kirepült** és rekrutaként a populációba visszatért **hímek** (és tojók) **ujjaránya nem különbözött** szignifikánsan. Az **ujjhosszak méretének változása inkább korfüggést mutatott**. Az alternatív hipotézisek predikciói között csak a hormonkoncentrációk manipulációjával lehetne különbséget tenni

5) A tojáshéj színezete és az anyai részrehajlás

(Hargitai, R., Herényi, M., and Török, J. 2008: Eggshell colouration in relation to female condition, male attractiveness and egg quality in the collared flycatcher (*Ficedula albicollis*). *Journal of Avian Biology* 39: 413-422.)

Az anyai hatások egyik újonnan felfedezett területe azokra a hatásokra koncentrál, amelyek a tojáshéj képződése során vagy közvetlenül azt megelőzően befolyásolják a tojó madár viselkedését. Az örvös légykapó tojásainak héja kékeszöld színezetű. Ezt a színt elsősorban a **biliverdin nevezetű antioxidáns** pigment eredményezi, melynek ilyenén felhasználása befolyásolja a tojó antioxidáns kapacitását (kapcsolat a karotinoid alapú anyai részrehajláshoz). Vagyis a **héj színezetének mintázata nem független a tojó kondíciójától és egészségi állapotától**. Analizáltuk a fotometriásan mért tojáshéjszínezet és a szülői fenotípusos jellegek, valamint a fészekalj nagyság, a lerakási sorrend és a költéskezdet közötti kapcsolatokat, **korrelatív megközelítést alkalmazva**. Továbbá vizsgáltuk a kapcsolatot a tojás mérete és héjának színezete valamint beltartalma (karotinoid- és antitestszintje) között. A tojáshéj színezetének intenzitása növekedett a fészkelési időszak előre haladtával. **Pozitív összefüggést kaptunk a tojáshéj kéksége és a tojás sárgájának lutein koncentrációja között**, ami cáfolhatja a környezeti elérhetőség korlátozottságát. Talán a legfontosabb eredménynek azt tekinthetjük, hogy azok a **tojók, melyek rosszabb minőségű hímekkel álltak párba, növelték tojáshéjuk biliverdinszintjét, ugyanakkor a tojók egészségi állapota, kora, mérete és kondíciója nem kapcsolódott a héj színezetével**.

Irodalomjegyzék

- Alonso-Alvarez, C., Bertrand, S., Devevey, G., Prost, J., Faivre, B., Sorci, G. 2004: Increased susceptibility to oxidative stress as a proximate cost of reproduction. *Ecology Letters* 7: 363-368.
- Andersson, S., Örnberg, J., Andersson, M. 1998: Ultraviolet sexual dimorphism and assortative mating in blue tits. *Proceedings of the Royal Society of London*, B. 265: 445-450.
- Blount, J.D., Houston, D.C., Møller, A.P. 2000: Why egg yolk is yellow. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 47-49.
- Böhm, F., Edge, R., Land, E.J., McGarvey, D.J., Truscott, T.G. 1997. Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *Journal of the American Chemical Society* 119: 621-622.
- Burley, N. 1988: The differential-allocation hypothesis: an experimental test. *American Naturalist* 132: 633-628.
- Dufva, R., Allander, K. 1995: Intraspecific variation in plumage coloration reflects immune response in Great Tit (*Parus major*) males. *Functional Ecology* 9: 785-789.
- Fletcher, D.L. 1980: An evaluation of the AOAC method of yolk color analysis. *Poultry Science* 59: 1059-1066.
- Graczyk, T.K., Cranfield, M.R., Shaw, M.L., Craig, L.E. 1994: Maternal antibodies against Plasmodium spp. in African black-footed penguin (*Spheniscus demersus*). *Journal of Wildlife Disease* 30: 365-371.
- Haq, A., Bailey, C.A., Chinnah, A. 1996: Effect of β -carotene, canthaxanthin, lutein, and Vitamin E on neonatal immunity of chicks when supplemented in the broiler breeder diet. *Poultry Science* 75: 1092-1097.
- Hörak, P., Surai, P.F., Møller, A.P. 2002: Fat-soluble antioxidants in the eggs of great tits *Parus major* in relation to breeding habitat and laying sequence. *Avian Science* 2: 123-130.
- Hunt, S., Bennett, A.T.D., Cuthill, I.C., Griffiths, R. 1998: Blue tits are ultraviolet tits. *Proceedings of the Royal Society of London*, B. 265: 451-455.
- Mousseau, T.A., Fox, C.W. 1998: *Maternal Effects as Adaptations*. Oxford University Press, New York.
- Naqi, S.A., Marquez, B., Sahin, N. 1983: Maternal antibody and its effect on infectious bursal disease virus. *Avian Disease* 25: 831-838.
- Rosivall, B., Szöllösi, E., Török, J. 2005: Maternal compensation for hatching asynchrony in the collared flycatcher *Ficedula albicollis*. *Journal of Avian Biology* 36: 531-537.
- Royle, N.J., Surai, P.F., McCartney, R.J., Speake, B.K. 1999: Parental investment and egg yolk lipid composition in gulls. *Functional Ecology* 13: 298-306.

- Saino, N., Bertacche, V., Ferrari, R.P., Martinelli, R., Møller, A.P., Stradi, R. 2002a: Carotenoid concentration in barn swallow eggs is influenced by laying order, maternal infection and paternal ornamentation. *Proceedings of the Royal Society London Biology Sciences B* 269: 1729-1733.
- Saino, N., Dall'ara, P., Martinelli, R., Møller, A.P. 2002b: Early maternal effects and antibacterial immune factors in the eggs, nestlings and adults of the barn swallow. *Journal of Evolutionary Biology* 15: 735-743.
- Schwabl, H. 1993: Yolk is a source of maternal testosterone for developing birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 90: 11446-11450.
- Schwabl, H. 1996: Maternal testosterone in the avian egg enhances postnatal growth. *Comparative Biochemistry and Physiology, A* 114: 271-276.
- Surai, P.F., Speake, B.K. 1998: Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the developing embryo. *Journal of Nutritional Biochemistry* 9: 645-651.
- Williams, T.D. 1994: Intraspecific variation in egg size and egg composition in birds: effects on offspring fitness. *Biological Reviews* 68: 35-59.
- Winkler, D.W. 1993: Testosterone in egg-yolks - an ornithologist's perspective. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 90: 11439-11441.