

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar
Biomatematikai és Számítástechnikai Tanszék

Tolltetű fajok terjedési stratégiáinak kísérletes vizsgálata egy ragadozó madáron

Készítette: Piross Imre Sándor
Biológus MSc. II. évfolyam

Témavezető: Dr. Harnos Andrea
SZIE Állatorvos-tudományi Kar, Biomatematikai és Számítástechnikai Tanszék

Társ-témavezetők:
Dr. Rózsa Lajos
MTA-MTM-ELTE, Állatökológiai Kutatócsoport
Fehérvári Péter
Magyar Természettudományi Múzeum, Állattár

Budapest

2014

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	4
2. Anyag és módszer	7
2.1. A kék vércse	7
2.2. A mintavételi terület.....	7
2.3. Mintavétel az állományból.....	8
2.3.1. Mintavétel fiókákról, 2012.....	8
2.3.2. Mintavétel felnőtt madarokról, 2014.....	9
2.3.3. Teljes fészekaljak mintavételezése, 2014.	9
2.4. Ektoparaziták gyűjtése	9
2.5. Tollminták vétele a fiókáktól	9
2.6. Parazitológiai minták meghatározása.....	10
2.7. DNS kivonás a háttollakból	10
2.8. PCR	11
2.9. A PCR termékek gélelektroforézise.....	12
2.10. Statisztikai módszerek.....	13
2.10.1. A fertőzöttség leíró statisztikái.....	13
2.10.2. A tolltetű fertőzöttséget leíró modellek.	14
3. Eredmények.....	16
3.1. A talált ektoparazita fajok	16
3.2. A tolltetű fajok terjedési mintázatai a fiókák közt	17
3.3.1. Az egyes fajok mennyiségét befolyásoló tényezők elemzése.....	18
3.3.2. <i>Degeeriella rufa</i>	19
3.3.3 <i>Colpocephalum subzerafae</i>	20
3.3 A felnőtt madarak fertőzöttségét befolyásoló tényezők.....	20
3.3.1 <i>Degeeriella rufa</i>	20

3.3.2 <i>Colpocephalum subzerafae</i>	21
3.4 A fészekaljok fertőzöttsége	24
3.4.1 <i>Degeeriella rufa</i>	24
3.4.2 <i>Colpocephalum subzerafae</i>	25
4. Diskusszió	26
5. Összefoglalás.....	30
6. Summary	32
Köszönetnyilvánítás	34
Irodalomjegyzék.....	Hiba! A könyvjelző nem létezik.

1. Bevezetés

A parazitizmus az egyik leggyakoribb életforma, mely többször, és változatos formákban jelent meg a törzsfejlődés során (De Meeûs and Renaud 2002). Az élősködők a gazdaegyeden belül mindig egy szűkebb környezetben, testtájban vagy testtájon találhatók meg, és ennek megfelelően változik a gazdára kifejtett hatásuk, terjedési lehetőségeik, és viselkedésük is különbözik.

Bár az endo- és ektoparaziták is folyamatosan alacsonyabb patogenitásra szelektálódnak, a fertőzött egyedek régóta létező gazda-parazita rendszerekben is komoly fitnesscsökkenést szenvedhetnek el (Møller et al. 1990). A paraziták azon kívül, hogy gyengíthetik a gazda szervezetét, az egyedek viselkedését is megváltoztathatják, mint például a trichinellózistól szenvedő tarka vércsék (*Falco sparverius*), akik eltérő repülési képességeket mutatnak nem fertőzött társaikhoz képest (Saumier et al. 1988). Az élősködők gazdáik populációdinamikáját is befolyásolhatják. Az *Ixodes uriae* kullancsfaj csökkenti a csüllők (*Rissa tridactyla*) szaporodási sikerét, a madarak felmérik a fertőzöttség mértékét egy kolóniában és figyelembe veszik azt a következő évi költőhely választásnál (Boulinier and Danchin 1996). Az élősködők gazdáikra kifejtett hatását jobban ismerjük, de azt, hogy a gazdák hogyan hatnak a parazitáikra, viselkedésükkel mennyiben tudnak alkalmazkodni a gazdák egyedi jellegzetességeihez, jóval kevésbé kutatott témakör.

Az endoparazitáknak valamilyen módon be kell hatolni a szervezetbe, ez történhet többek közt a táplálkozás során, vagy valamilyen vektor közreműködésével. Az emiatt sok helyen kialakult többgazdás, bonyolult fejlődésmenetekben jóval nagyobb szerephez jut a véletlen a parazita egyedek terjedése során. Több faj tudja befolyásolni a gazda viselkedését a hatékonyabb terjedés érdekében (Biron et al. 2005), de sokszor jobban kiszolgáltatottak a külső körülményeknek, mint az ektoparaziták. A madarak gyakori külső élősködői a tolltetvek, melyek önállóan képesek terjedni a gazdaegyedek közt, így jobban vizsgálható, milyen döntési kényszerek befolyásolják viselkedésüket.

A tetvek rendjébe (Insecta: Phthiraptera) tartozó fajok kizárólag állatok ektoparazitái, melyek teljes életciklusukat emlősök vagy madarak testfelületén töltik. Epimorfózissal fejlődnek, a kifejlett példányok életideje körülbelül egy hónap. Ivarosan szaporodnak, a nőtények nagyjából naponta raknak le egy petét, egy madáron több átfedő generáció is élhet egyszerre. A kifejlett egyedek mérete 0,3 és 11 mm között mozoghat, testalkatukra a hát-hasi lapítottság jellemző. A madarak tetveit a fonalascsapúak (Ischnocera) és a bunkóscsapúak

(Amblycera) alrendjeiben találjuk (Clayton and Johnson 2003). A leginkább elterjedt és változatos Philopteridae család a fonalascsapúak alrendjébe tartozik. Csápjaik rögzítőszervvé alakultak, mozgásszerveik erősen adaptálódtak a tollazatban való mozgáshoz, a bunkóscsapúakhoz képest kevésbé mobilisnak írták le őket. Jellemző rájuk, hogy nem táplálkoznak vérrel, főleg pihetollak anyagát fogyasztják. A Menoponidae család a bunkóscsapúak alrendjébe tartozik. A *Colpocephalum* nemzettség tagjai fejlődő, tokos tollakat rágnak meg, főleg hámtörmelékkel és vérrel táplálkoznak. A *Laemobothrion* nemzettséget négy faj alkotja, melyek a legnagyobb madarakon élő tetvek, testhosszuk akár az 1 cm-t is elérheti (Nelson and Price 1965), főként vérrel táplálkoznak.

A tetvek számára a madár egy szigetszerű élőhelyet jelent. Mivel a gazdaegyedek élettartama véges, és a tolltetvek számára ismereteink szerint nem felmérhető, ezért folyamatos továbbterjedési kényszer alatt állnak. Bár egyes tetvek képesek kullancslegyekbe (Hippoboscidae) kapaszkodva utazni madarak közt (Foresia) (Harbison et al. 2009), ez ritka jelenségnek számít. Terjedésükhöz két madár közvetlen érintkezése szükséges, melynek két útja lehetséges. A horizontális transzmisszió során nem rokon egyedek közt adódnak át paraziták, például a párzáskor. A vertikális transzmisszió során a szülőről a fiókákra terjednek a tetvek. Ez az útvonal kiemelt jelentőséggel bír több szempontból is. Az utódgondozást végző szülő rendszeresen, és hosszabb ideig érintkezik a fiókákkal akár etetés, melengetés vagy árnyékolás során. A tetvek a fészekaljon belül fiókáról-fiókára is tudnak terjedni azok kirepüléséig, amely lehetőséget ad, hogy több gazdaegyed közül válasszanak.

A paraziták abundanciáját nem csak a gazda faji tulajdonságai szabályozzák, az egyes gazda egyedek közt jelentős különbségek vannak az élősködők szempontjából. A szexuális szelekció az egyes ivaroknál eltérő színezetet, testméretet alakíthat ki, illetve befolyásolhatja a gazda védekezésének erősségét is. Az, hogy melyik ivar biztosít kedvezőbb élőhelyet egy parazita számára, függ az adott gazda-parazita rendszertől. A hím nyírfajdok (*Tetrao tetrix*) nagyobb arányban fertőzöttek az *Ascaridia compar* orsóféreggel, míg galandférgek prevalenciája közt nem volt különbség a két ivar közt (Isomursu et al. 2006). A fekete rigó (*Turdus merula*) esetében viszont a tojó fiókák voltak fertőzöttebbek a hímekhez képest a *Brueeliella merulensis* tetűvel (Brooke 2010). A gazdák életmenete parazitáikra is kihatással lehet. A *Menacanthus alaudae* tolltetű abundanciája nagyobb volt a költési időszakban a házi pirókokon (*Carpodacus mexicanus*), a rajtuk élő egyik atkafaj, a *Pellonyssus reedi* pedig a vedléskor volt jelen nagyobb számban a madarakon (Hamstra and Badyaev 2009).

A paraziták viselkedésének vizsgálatához, önmagában nem elég sok gazdától mintát venni. Megfelelő számú élősködő összegyűjtése, a gazdák közötti aggregált eloszlásuk miatt, sokszor nagy erőbefektetést igényel. Érdemes a vizsgálatot ezért egy olyan rendszeren végezni, amiben a paraziták eloszlása minél egyenletesebb. Mivel a tolltetvek terjedéséhez szükséges a madarak fizikai érintkezése, várható, hogy a gazda faj életmódja befolyásolja ektoparazita populációjának struktúráját. A territoriális dolmányos varjú (*Corvus corone corvix*) és a telepesen költő vetési varjú (*Corvus frugilegus*) parazitáltságának vizsgálatakor kimutatták, hogy a vetési varjakon a tolltetvek kevésbé aggregáltan oszlanak el. Ezt azzal magyarázták, hogy valószínűleg többször érintkeznek egymással koloniális költési rendszerük miatt, mint a dolmányos varjak (Rózsa et al. 1996). Egy későbbi tanulmányban számos madárfaj összehasonlításánál nem találtak szignifikáns összefüggést a madarak szocialitásának mértéke és a tolltetvek abundancia értékei közt (Rózsa 1997). Észrevehetőek általános trendek a fertőzöttségi mintázatokban, azonban az az egyes tolltetű fajokra a madárfajok szociabilitása eltérő hatással lehet. A galápagoszi ölyvön (*Buteo galapagoensis*) talált két tolltetű faj, a *Degeeriella regalis* és a *Colpocephalum turbinatum* abundanciáját és intenzitását vizsgálták a gazdák által alkotott csoportok méretének függvényében. A bunkóscsápú *Colpocephalum turbinatum* átlagos abundanciája magasabb volt a nagyobb méretű csoportokban, míg a fonalascsápú *Degeeriella regalis* átlagos abundanciájára nem volt szignifikáns hatással a csoportméret (Whiteman and Parker 2004).

A kék vércse (*Falco vespertinus*) hazánkban is élő ragadozó madár, mely szoliter és telepes módon is költ más madárfajokkal közösen. Hosszútávú vonulóként a kék vércsének különösen fontos tollazatuk állapota. Mivel hazai költőállományuk aktív védelemre szorul, fontos, hogy ismerjük, mi befolyásolja a vonulás előtti kondíciójukat. Eltérő költési módot választó egyedek bevonásával, fajon belül végezhetők olyan összehasonlítások ektoparazita populációikon, amiket eddig csak fajok között tudtunk vizsgálni, ezért a kék vércse jó modellállata lehet a parazitaökológiai vizsgálatoknak. Vizsgálatom kérdései, hogy

1. Milyen tolltetű fajok találhatóak a Cserebökényi, Vásárhelyi- és Csanádi-puszták és a Pó-síkság kék vércse állományának fiókaín?
2. A tolltetvek hasonlóan terjednek-e a hím és tojó fiókák közt?
3. A fiókakorban tapasztalt fertőzöttségi mintázatok megmaradnak-e a felnőtt madarakon is?
4. A hím és tojó madarak egyenlő mértékben járulnak-e hozzá fiókáik tolltetű populációjához?

2. Anyag és módszer

2.1. A kék vércse

A kék vércse (*Falco vespertinus*) a sólyomalkatúak rendjébe (Falconiformes), ezen belül a sólyomfélék családjába (Falconidae) tartozik, költőterülete Közép-Ázsiától Közép-Európáig terjed. Magyarországon a keleti országrészben, főleg rövidfűvű gyepekhez, legelőkhöz és más agrárterületekhez kötődve találjuk meg. A múlt század kilencvenes éveiben a Pó-síkságon (Olaszország) is megjelent egy kis költőállományuk, korábbi elterjedési határuktól több száz kilométerre, nyugatra. Hosszú távú vonulók, délnyugat-afrikai telelőterületeikre szeptember végén, október elején indulnak el. A faj természetes körülmények közt a telepesen költő vetési varjú (*Corvus frugilegus*) fészkeit használja, de az állomány túlnyomó része jelenleg fajvédelmi intézkedések keretében létrehozott mesterséges telepeken költ.

Kistermetű ragadozó madarak, felnőttkorban kifejezett ivari dimorfizmus jellemzi őket. Az adult hímek kékes palaszürkék, tollaik erősen melanizáltak, alsó farokfedőik és combjaik azonban téglavörösek. A tojók háta szürke alapon feketével harántsávozott, testaljukat és fejüket halvány vöröses-sárga szín jellemzi, átlagosan tömegben és testméretben is meghaladják a hímeket. Fiókáik első tollruhája inkább a tojókéhoz hasonló, hátuk barnás, sárgás-barna hasukat fekete foltok tarkítják, faroktollaikon sötét-világos harántsávok találhatók. Az egyes ivarok ebben a korban külső jegyek alapján még nem különíthetők el. A faj szaporodási és párválasztási rendszere még nem jól ismert, hasonló életmódú rokonával, a fehérkarmú vércsével (*Falco naumanni*) végzett vizsgálatok alapján monogám fajnak tartják őket (Alcaide et al. 2005). Az utódgondozásban mindkét szülő részt vesz. A tojó többet tartózkodik a fészkek közelében, a hím ideje nagy részét vadászattal tölti, így kevesebbet érintkezik a fiókákkal.

2.2. A mintavételi terület

A terepmunkát 2012-ben és 2014-ben a Körös-Maros Nemzeti Park Igazgatóság (KMNPI) területén a Cserebökényi, Vásárhelyi- és Csanádi-pusztákon végeztem. A térség jelentős kék vércse állománynak ad otthont, jellemzően mesterséges telepeken. A területen a Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület (MME) Kékvércse-védelmi Munkacsoportja és a nemzeti park munkatársai évek óta végzik a költések monitorozását és a fiókák gyűrűzését (<http://falconproject.eu>). 2014-ben egy Párma (Olaszország) melletti mesterséges vércsetelepen is gyűjtöttem mintákat.

2.3. Mintavétel az állományból

2.3.1. Mintavétel fiókákról, 2012.

A mintagyűjtés rétegezett random mintavétellel történt, a mintavételi terület különböző telepein több fészket jelöltem ki véletlenszerű módon, majd ezek fészkealjaiból választottam fiókákat. A mintába igyekeztem a lehető legtöbb telepet és fészkealjat bevonni. Mivel a tolltetvek terjedésénél a vertikális transzmisszió kiemelt jelentőségű (Clayton and Tompkins 1995), és a paraziták az állományban aggregáltan oszlanak el, a két ivar közt esetlegesen fennálló abundancia különbségeket csak hím és tojó fészkektestvérek összehasonlításával lehet vizsgálni. Mivel a fiókák a fészkekben egymással szoros fizikai kontaktusban vannak, a fészkeken belül mért abundancia értékek egymással erősen korrelálnak, egy fészkealjból csak egy hím és egy tojó fiókaról vettem mintát.

Fiókakorban a kék vércse fiókák ivara külső morfológiai bélyegek alapján nem határozható meg egyértelműen, de bizonyos jellegek alapján becsülhető. Az első vonulásból visszaérkező másodéves kék vércsék ivara az adult madarakra jellemző bélyegek alapján már egyértelműen meghatározható, de mivel megszakított teljes vedlést végeznek a telelőterületen, melynek mértéke egyedenként eltérő, szinte mindig találni fiókakorból maradt test-, illetve repülő tollakat, így lehetőség nyílik ezeken ivarfüggő mintázatok keresésére.

Ristow (2004) jellemző mintázatot figyelt meg a fiókák faroktollain. A faroktollakon sötét és világos sávok váltakoznak, a tojókon a sötét sávok jellemzően vastagabbak, mint a világosak. Miután még nem készült a mintázat ivarfüggését kvantitatívan és egzaktul leíró tanulmány, a mintázat alapján nem lehet a fiókák ivarát egyértelműen meghatározni, így megkerülhetetlen a pontos PCR-alapú ivarmeghatározás. A faroktoll-mintázat alapján történő ivarbecslés csökkenti a szükséges terepi ráfordítást, így növelve a mintavétel hatékonyságát, illetve csökkenti a kék vércsékre irányuló zavarást. Ezt a mintázatot ivarbecslésre használva egy fészkealj fiókái közül csak egy hímnek és egy tojónak becsült fiókaról vettem ektoparazita mintát.

Az ektoparazitológiai minták gyűjtésére a fiókák gyűrűzése után került sor. A gyűrűző, miután karakteres alumínium és távcsővel leolvasható színes gyűrűkkel látta el a fiókákat, lemérte tömegüket, a faroktoll-, félszárny- és felkarhosszukat. A gyűrűzés és az ektoparazitológiai mintavétel megkezdése előtt a fiókák külön vászonzsákokban voltak tárolva, hogy a rajtuk lévő paraziták ne tudjanak esetleg más egyedekre áttérjedni, torzítva az adatokat.

2.3.2. Mintavétel felnőtt madarokról, 2014.

2014-ben a mintavételi területen befogott, adult kék vércsétől vettem ektoparazitológiai mintát. A madarokról felvett morfometriai adatok megegyeznek az előző pontban ismertetettekkel. Ahol a mintavétel megelőzte a fiókanevelés időszakát, csak a pár egyik tagját kezeltem.

2.3.3. Teljes fészekaljak mintavételezése, 2014.

A fiókanevelés időszakában a korábban ektoparazitológiai mintavételen átesett szülők teljes fészekaljait mintáztam, ahol erre lehetőség volt. Összehasonlítási alapként olyan fészekaljakat is bevontam, ahol egyik szülőről sem gyűjtöttem mintát, előlve ezzel a rajtuk élő parazitákat. A kísérletbe bevont fészekaljak így három csoportba oszthatók: a) olyan fészekaljak, ahol a hím szülőről irtottam le korábban az ektoparazitákat (hím kezelt), b) olyanok, ahol a tojó szülő esett át kezelésen (tojó kezelt), illetve c) kontroll fészekaljak, ahol egyik szülőről sem gyűjtöttem mintát.

2.4. Ektoparaziták gyűjtése

Az ektoparaziták gyűjtése madarakra és emberre ártalmatlan (Todd et al. 2003) piretrin tartalmú rovarölő porral történt. A porral a madár teljes testfelületét egyenletesen kezeltem, majd egységes 5 perces időintervallumban (Rózsa 2003) gyűjtöttem a madár alá helyezett műanyag tálcára hulló ektoparazitákat. A mintavétel alatt a tollazatot egy csipesszel finoman borzoltam, hogy elősegítsem a paraziták kihullását. A tálcára eső parazitákat 70%-os etanollal feltöltött centrifuga csőbe helyeztem, és ebben tároltam a továbbiakban (1. ábra).

2.5. Tollminták vétele a fiókáktól

A tépett tokos tollak csévéjében maradó vér és egyéb szöveti elemek megfelelő mennyiségű és minőségű DNS-t tartalmaznak egy polimeráz láncreakcióhoz. A gyűrűző három tokos háttollat tépett ki a fiókából, majd ezt steril centrifuga csőbe helyezte. A minták a DNS kivonás megkezdéséig -20 °C fokon lettek tárolva.



1. ábra: *Piretrines* ektoparazitológiai mintavétel felnőtt kék vércse (*Falco vespertinus*) hímről. Vásárhelyi-puszták, 2014. Fotó: Horváth Éva

2.6. Parazitológiai minták meghatározása

A 2012-es parazitológiai minták meghatározását Dr. Vas Zoltán, a Magyar Természettudományi Múzeum munkatársa végezte, aki a 2014-es minták meghatározásában is segítségemre volt. Az egyes egyedeket Zeiss Stemi DRC sztereo mikroszkóp alatt vizsgáltuk 20x-os és 40x-es nagyításon. A határozás alapjául Price és munkatársai (2003) műve szolgált.

2.7. DNS kivonás a háttollakból

A DNS izolálás megkezdése előtt a tollat Parafilm[®] lapra helyeztem, majd sterilizált szikével a tollcséve végét lemetszettem, és több kisebb darabra vágtam, hogy a következő emésztési lépés minél hatékonyabb legyen. A DNS kivonását a tollmintákból módosított kisózásos protokoll szerint végeztük (Gemmell and Akiyama 1996). Az emésztési lépés célja, hogy a sejtek lízisével és a környező fehérjék bontásával a nukleinsavak más vegyületektől elválaszthatóak legyenek. A steril centrifugacsőbe helyezett tollcséve darab mellé 12 µl Proteináz-K (Fermentas) univerzális fehérjebontó enzimet mértem. A hozzáadott 10 µl DTT (1,4-dithiothreitol, Fermentas) redukáló ágens – mely a fehérjék diszulfid kötéseit bontja –

alkalmazása fontos, mivel a tollak ellenálló keratinos képleteket tartalmaznak. Az SDS (nátrium-dodecil-szulfát, 20%, 15 µl) anionos felületaktív anyag, szerepe van a sejtmembránok feloldásában és a fehérjék denaturálásában. Az összetevőket 100 µl Proteináz-K pufferben (0,375 M NaCl, 0,12 M EDTA) és 155 µl desztillált vízben oldottam fel. Az elegyet tartalmazó centrifugacsövet vortexeltem, majd 55 °C fokon vízfürdőbe helyeztem egy éjszakára. A második lépésben az oldatot a megemésztetlen törmeléktől elválasztva új centrifugacsőbe pipettáztam, és 315 µl 5M LiCl oldatot adtam hozzá, ami az oldatban lévő fehérjéket kicsapja. Vortexelés után 630 µl 24:1 kloroform-izoamil-alkoholos oldatot adtam az elegyhez a nem vízoldható komponensek elválasztásához, illetve a fehérjék denaturálásához, majd a cső tartalmát újra vortexeltem. 10 perc 13000 fordulat/percen végzett centrifugálás után a nukleinsavakat tartalmazó, felülúszó vizes fázist új csőbe mértem, majd 400 µl izopropanolt (propán-2-ol) adtam hozzá. Az izopropanol szerepe, hogy az oldatban lévő DNS-t kicsapja, így az megtisztítható lesz az oldathoz adott nagy mennyiségű sótól. Hogy a DNS minél jobban ki tudjon válni az oldatból a centrifugacsöveket egy éjszakára -20 °C fokos mélyhűtőbe tettem. A harmadik lépésben másnap a kicsapódott DNS-t centrifugálással teljesen leülepítettem (15 perc 13000 fordulat/perc), majd folyadékot leöntve 800 µl 70%-os etanolt adtam, ami a DNS-t részlegesen rehidratálva elősegíti annak megtisztítását. Leöntés után a maradék etanolos oldatot a DNS csapadékról sötét helyen elpárologtattam, majd 50 µl TE (10 mM TRIS/HCl, 0,1 mM EDTA) pufferben feloldottam. Az extraktumok további felhasználásig -20 °C fokos mélyhűtőben voltak tárolva. Azoknál a mintáknál, ahol a PCR reakció ismételt újraizolálás után sem hozott eredményt, a megmaradt tollakból Quiagen® DNeasy Blood & Tissue Kit (Quiagen Valencia CA.) segítségével izoláltam DNS-t a Spin-Column protokollt használva, a gyártó utasításai szerint.

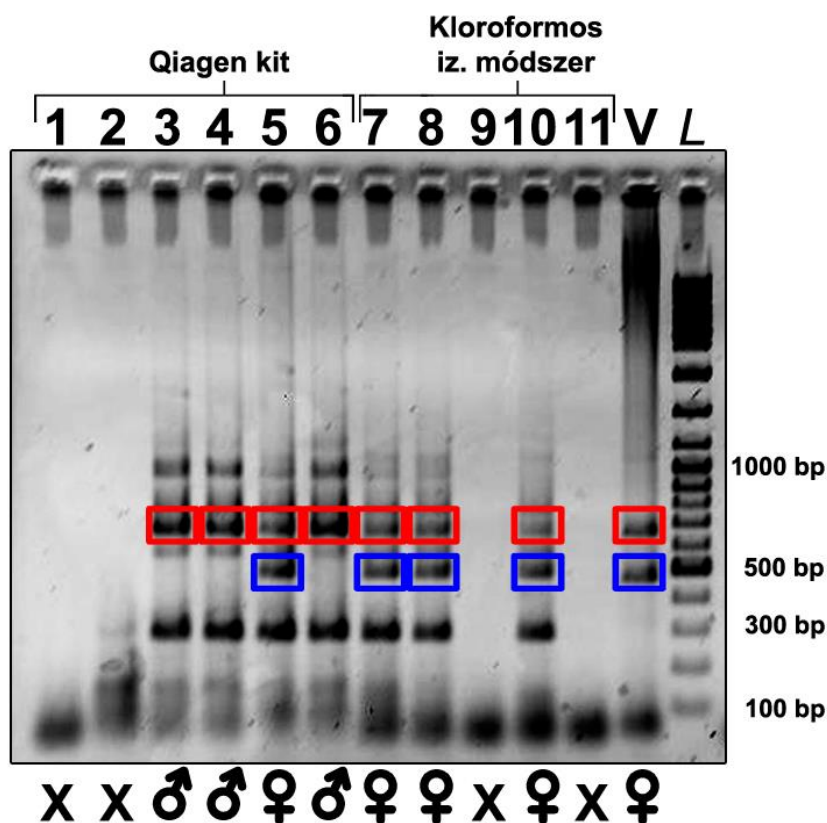
2.8. PCR

A jelen vizsgálatban használt PCR alapú ivarhatározás a CHD1 gén különböző ivari kromoszómákon mutatott intronhossz polimorfizmusán alapul. A CHD1 gén a kromo-helikáz DNS-kötő fehérjét kódolja, és a különböző ivari kromoszómákhoz kötődően két változata ismert (Morinha, et al. 2012). A használt 2550f-2718r primerpár (Fridolfsson and Ellegren 1999) mindkét változat egy régióját szaporítja fel. A W és Z kromoszómáról amplifikált szakaszok mérete különböző a bennük található intron eltérő hossza miatt. Így a tojóknál, mint heterogametikus ivarnál (WZ) a reakció kétféle, eltérő hosszúságú terméket fog eredményezni, szemben a hímekkel, ahol a két azonos ivari kromoszómáról (ZZ) azonos méretű szakaszok fognak képződni. A PCR minden esetben 25 µl végtérfogatban zajlott. A

reakcióelegy 3 µl TE pufferben feloldott DNS-t, 0,1 µl DreamTaq™ (Fermentas) polimeráz enzimet, 2,5 µl 10X DreamTaq™ puffert (Fermentas), 1 µl dNTP Mixet (2 mM, Fermentas), 1 µl MgCl₂-t (25 mM), 2-2 µl forward és reverz primert (5 pM) és 13,4 µl desztillált vizet tartalmazott. A PCR program 2 perces kezdeti 95 °C fokon zajló denaturációs szakasza után 37 ciklusban zajlott az amplifikáció. A ciklus elemei sorban: 30 másodperc denaturációs lépés 95 °C-n, 1 perc annealáció 50 °C-n és 1 perc elongáció 72 °C fokon. Végül a program zárásaként egy 5 perces elongációs szakasz következett 72 °C fokon.

2.9. A PCR termékek gélelektroforézise

A PCR termékek szétválasztását agaróz gélelektroforézissel végeztem. 10 µl PCR terméket kevertem össze 2 µl brómfenolkéket és glicerint is tartalmazó felvivőfestéssel Parafilm® felszínén, majd 2,5 %-os agaróz gél zsebeibe mértem. A gélelektroforézis 100V-on 45 percig futott. A gélben elválasztott termékek 8 perc etídium-bromidos áztatást követően UV-asztalra téve váltak láthatóvá (2. ábra).



2. ábra: A 2550f-2718r primerekkel végzett PCR termékei agaróz gélben. Két különböző DNS izolálási módszert is sikerrel alkalmaztam. Referenciaként egy háziveréb (*Passer domesticus*) mintát (V) is futtattam. A W-specifikus szakasz (kék) 500 bázispár (bp), a Z-specifikus szakasz (piros) 800 bázispár körül látható.

2.10. Statisztikai módszerek

Mára általánosan ismert, hogy az élősködők a gazdaegyedeken aggregált módon oszlanak el (Crofton 1971). A statisztikai elemzések készítésénél és értelmezésénél, ezért körültekintően kell eljárni, mivel számos gyakran használt módszer nem alkalmazható az adatok erősen jobbra ferde eloszlása miatt. Fontos, hogy a használt mérőszámok, illetve az alkalmazható módszerek által szolgáltatott eredmények konkrét, értelmezhető biológiai jelentéssel bírjanak.

2.10.1. A fertőzöttség leíró statisztikái

Mivel nincs egyetlen olyan mérőszám sem, amely önmagában képes lenne jellemezni egy minta fertőzöttségét, ezért a minták fertőzöttségének jellemzésére többféle leíró statisztikát használhatunk, melyek eltérő biológiai jelentéssel bírnak. Az eredmények korrekt közlése megkívánja, hogy az adott mérőszám értéke mellett közöljük a hozzátartozó választott megbízhatósági szintű konfidencia-intervallumot és a vizsgált gazdaegyedek számát, vagyis a mintaelemszámot.

A prevalencia az adott parazita fajjal fertőzött egyedek arányát adja meg a mintában található összes gazdaegyedhez képest. Ezt az arányt 0-1-ig terjedő skálán vagy százalékos formában lehet megadni. Reiczigel (2003) cikkében több konfidencia-intervallum szerkesztési eljárás közül a Sterne-féle módszer használatát javasolta.

A gazdaállatokon található paraziták számának jellemzésére az abundanciát, a csak fertőzött egyedekre vonatkozó intenzitást, valamint az ezekből számított átlag és medián értékeket használhatjuk. Az irodalomban inkább az intenzitás használatát javasolják (Rózsa et al. 2000), mivel a prevalenciával már kifejeztük a fertőzött egyedek arányát, így az abundanciával szemben az intenzitás megadásával a közlés nem lesz részben önismétlő, illetve az abundancia az előző két mérőszám, valamint a mintaelemszám ismeretében kiszámolható. Az egyes intenzitás értékekből számított átlag és medián intenzitás biológiai jelentése eltér. Az átlagintenzitás által mutatott érték a paraziták aggregált eloszlása miatt nem arról nyújt információt, hogy átlagosan mennyi élősködő található egy gazdaállaton, hanem a gazdapopuláción található élősködők mennyiségét jellemzi. Azt, hogy várhatóan hány parazitát találunk a vizsgált populáció egy véletlenszerűen kiválasztott tagján, a medián intenzitás kiszámításával kaphatjuk meg, mivel ezt kevésbé befolyásolják a mintába véletlenül bekerülő vagy abból kimaradó különösen fertőzött egyedek. Az intenzitás átlagához tartozó

konfidencia-intervallumot bootstrap eljárással szerkeszthetjük meg, míg a medián intenzitáshoz tartozót a Rózsa és munkatársai cikkében (2000) ismertettek szerint.

Egy minta aggregáltságának jellemzése fontos a gazda-parazita populációk vizsgálatánál. Ezt az abundancia varianciájának és átlagának a hányadosával, a mintából kapott tapasztalati eloszlást legjobban közelítő negatív binomiális eloszlás k -kitevőjének megadásával, illetve a Poulin (1993) által javasolt diszkrepancia index-szel tehetjük meg. Ezen értékek megadása mellett érdemes a minta eloszlását grafikusán, hisztogrammal szemléltetni.

A dolgozatban közölt leíró statisztikákat és a hozzájuk tartozó konfidencia-intervallumokat az Quantitative Parasitology 3.0 programcsomag (Reiczigel and Rózsa 2005) segítségével számítottam ki.

2.10.2. A tolltetű fertőzöttséget leíró modellek.

A mintavétel során több különböző telephez tartozó fészekalj fiókáiról gyűjtöttem élősködőket. Mivel a tolltetvek terjedésénél a vertikális transzmisszió kiemelt jelentőségű azt, hogy hány tolltetvet találunk egy fiókán, nagyban befolyásolja a szülők fertőzöttsége, így az azonos fészekaljakból származó fiókák abundancia-értékei egymástól nem függetlenek. Hasonlóan az ugyanahhoz a telephez tartozó fészkeket érhetik olyan hatások, amik befolyásolhatják a fertőzöttséget. Innen ered az adatok hierarchikus struktúrája, amit az elemzésnél figyelembe kellett vennem.

A 2012-es adatok elemzéséhez általános lineáris kevert modelleket (LME) használtam, ahol az egymásba ágyazott random faktorok a telepek és a fészekaljak azonosítója volt. Fix faktornak az ivart, a gyűrűzés kori tömeg és félszárnyhossz változókat választottam. Bár az utóbbi két változó eltérő információkkal szolgál az egyes fiókák morfológiájáról, egymással korrelálnak. Ezért a modellbe ebből a két változóból szerkesztett indexet építettem bele a multikollinearitás elkerülése érdekében. Ennek a testméret-indexnek a használata abból a szempontból is indokolt lehet, hogy egy olyan változót tudtam így a modellbe építeni, amely a kort és a kondíciót egyszerre figyelembe véve jellemzi a fejlettséget. A függő változó gyöktranszformálva szerepel a modellben (Clayton and Drown 2001), hogy megfeleljen az alkalmazhatósági kritériumoknak, a tömeg és a félszárnyhossz változókat nem transzformáltam.

A felnőtt madarak fertőzöttségét befolyásoló tényezőket negatív binomiális (Nodtvedt et al. 2002), (Alexander et al. 2000) és zéróinflált negatív binomiális modellekkel vizsgáltam,

ott, ahol az alacsony prevalencia, a 0 értékek nagy száma az adatsorban ezt szükségessé tette (Pilosof et al. 2012), (Denwood et al. 2008). A fertőzöttség időbeli függésének vizsgálatához kiszámoltam, hogy a mintavétel dátuma hány nappal a pár költéskezde után történt (költéskezde óta eltelt napok száma). Magyarázó változónak ezen kívül a madár ivarát és fészárnyhosszát használtam. A kísérletbe bevont fiókák fertőzöttségének vizsgálatához negatív binomiális modellt használtam, az egyes fészekaljak hatását random faktorként építettem a modellbe. A csoportok többszörös összehasonlítását Tukey-próbával végeztem. A modellezéshez (Faraway 2005) az R statisztikai programot (R Development Core Team 2014) és a hozzá letölthető NLME (Pinheiro et al. 2013), lme4 (Bates et al. 2014), pscl (Jackman et al. 2007), (Zeileis et al. 2007) és multcomp (Hothorn et al. 2014) könyvtárakat használtam.

3. Eredmények

3.1. A talált ektoparazita fajok

2012-ben 14 telepen, összesen 67 fészekalj 95 fiókájától gyűjtöttem 802 tolltetű egyedet. 2014-ben 27 felnőtt hím és 33 tojó madáron 379 tolltetvet találtam. A teljes fészekaljak vizsgálatánál 151 fiókától vettem mintát, 10 hím kezelt, 12 tojó kezelt és 30 kontroll fészekaljból, 277 tolltetvet gyűjtve le róluk.

A *Degeeriella rufa* (Burmeister, 1838) a fonalascsapúak alrendjébe (Phthiraptera: Ischnocera), ezen belül a Philopteridae családba tartozik. A faj a sólyomféléken elterjedt, leginkább a *Falco* genus képviselőin találjuk meg (Clay 1958), (Price et al. 2003).

Colpocephalum subzerafae Tendeiro, 1988 a bunkóscsapúak alrendjébe (Phthiraptera: Amblycera), a Menoponidae családba tartozik. A faj eddigi ismereteink szerint csak a *Falco* nemzettség tagjain fordul elő (Price et al. 2003).

A *Laemobothrion tinnunculi* (L., 1758) szintén a Menoponidae családba tartozik. A faj kis számban fordult elő, csak a 2014-es mintában. A Vásárhelyi-pusztákon (KMNPI) egy felnőtt hím és egy tojó madáron találtam meg, ezen kívül még egy adult hímen fordult elő egy Pármához (Olaszország) közeli mesterséges telepen. A fajnak ez az első leírt előfordulása kék vércsén (Price et al. 2003). Hím, nőstény és lárvastádiumban lévő egyedeket mindkét, egymástól földrajzilag távol eső költőállományban találtam.

A mintákban egy a Menoponidae családba tartozó fajt is találtam, melyet rendelkezésre álló ismereteink alapján eddig nem sikerült azonosítani. A határozás a fajcsoport szakértőinek bevonásával jelenleg is zajlik. Az eddigi eredmények alapján lehet, hogy a parazita csak a Falconidae családban ismeretlen, de nem zárható ki az sem, hogy a tudományra nézve új fajt találtunk. Összesen 33 parazita egyedet azonosítottam a 2012-es mintában 23%-os prevalencia érték mellett (95%-os KI:15%-33%, N=95). A viszonylag magas prevalencia, és a lárvaalakok előfordulása jelzi, hogy a faj élő populációtja volt jelen az állományban a mintavétel időszaka alatt. A 2014-es mintában azonban csak egy darab fiókán fordultak elő.

Bár a vizsgálat a kék vércse tolltetveire irányult, a gyűjtött mintákban más ektoparaziták is előfordultak. A *Carnus hemapterus* (Insecta: Diptera: Carnidae) madarak vérszívó élősködője. Jellemzően fiatal, alacsony tollazati fejlettségű fiókák testhajlataiban rejtőznek, és ott táplálkoznak (Dawson and Bortolotti 1997). A mintákban ezen kívül egyelőre még meghatározatlan bolhákat és atkákat is találtam.

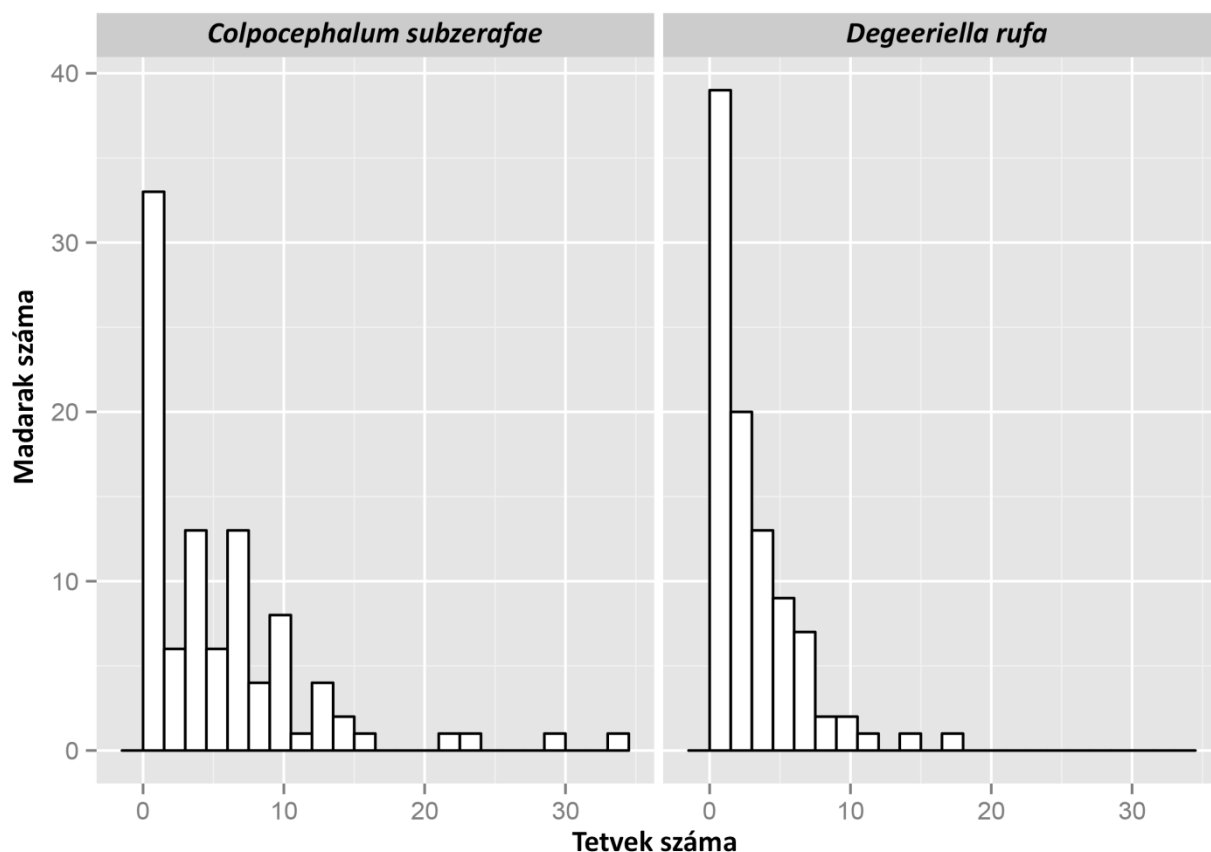
3.2. A tolltetű fajok terjedési mintázatai a fiókák közt

Rózsa és munkatársai (2000) ajánlása szerint egy minta fertőzöttségének jellemzéséhez a mintaelemszámot, a prevalenciát, a medián és átlagos intenzitást, valamint ezek 95 %-os konfidencia-intervallumait célszerű megadni. A két meghatározott tolltetű faj leíró statisztikáit az 1. táblázat tartalmazza.

N=95	<i>D. rufa</i>	<i>C. subzerafae</i>
Parazita egyedek száma a mintában	271	498
Prevalencia	78%	78%
95%-os KI	68% - 86%	68% - 86%
Átlagos intenzitás	3,66	6,73
95%-os KI	3,07 – 4,53	5,58 – 8,28
Medián intenzitás	2	5.5
KI	99.9%: 2 - 4	99.5%: 4 – 7
Aggregáltság	3,438	7,025

1. táblázat: A mintában talált fajokhoz tartozó leíró statisztikák. N a vizsgált madarak száma. A medián intenzitás konfidencia-intervallumainál azt a diszkrét értékre megszerkeszthető intervallumot tüntettem fel, ami a kívánt 95%-os megbízhatósági szintet már meghaladja. Az aggregáltság jellemzésére az abundancia varianciájának és átlagának hányadosát használtam.

A vizsgált fiókák nagy arányban fertőzöttek *D. rufa*-val és a *C. subzerafae*-vel. Mindkét fajnál hím, nőstény és lárva stádiumban lévő egyedeket is találtam. A megfigyelt intenzitás-értékek tanulsága szerint a *C. subzerafae* egyedi találhatóak meg a fertőzött fiókákon a nagyobb arányban, de *D. rufa* egyedek ugyanakkora valószínűséggel találunk rajtuk. Itt a prevalencia-értékek véletlen egyezést mutatnak, mivel a mintában ugyanannyi madár volt fertőzött a két fajjal. A parazitológiai mintáknál általánosan megfigyelhető aggregált eloszlás itt is megjelenik. Az aggregáltság mértékének jellemzésére az abundancia varianciájának és átlagának hányadosát használtam. Ez mindkét esetben 1-nél nagyobb, így a mintában talált eloszlások aggregáltak, de mivel nincs olyan ismert eljárás, amivel az aggregáltság-indexekhez konfidencia-intervallumot tudnánk szerkeszteni, a populációra vonatkozóan nem tudok számszerűsíthető becslést adni.



3. ábra: A fiókák eloszlása a *D. rufa*-val és *C. subzerafae*-vel való fertőzöttség abundancia osztályai között. A vizsgált madarak száma 95.

3.3.1. Az egyes fajok mennyiségét befolyásoló tényezők elemzése

A mintában összesen 23 olyan fészkalj volt, ahol hím és tojó fióka is volt. Mivel a tolltetvek mennyiségének ivarfüggése csak fészektestvérek összehasonlításával vizsgálható, a többi fióka adatait kizártam a további elemzésekből.

A fajok mennyiségét befolyásoló tényezők vizsgálata előtt felmértem, hogy a fiókák tömege illetve félszárnyhossza függ-e az ivaruktól. Az adatok struktúrájára tekintettel, itt is a random hatások figyelembevételével vizsgáltam az esetleges különbségeket. A két modell tanulsága szerint csak a fiókák tömege függ szignifikánsan az ivartól. A tojó fiókák tömege átlagosan 5-6%-kal nagyobb a hímekénél. A modellek eredményeit az 2. és 3. táblázat tartalmazza.

Tömeg	Becslés (g)	Standard hiba	Szabadsági fok	t-érték	p-érték
Hím	162.59	4.64	22	35.03	0
Tojó-Hím	+9.07	2.81	22	3.23	0.0038

2. táblázat: Az ivarok tömegbeli eltéréseit a mintában általános lineris kevert modellekkel (LME) vizsgáltam. A táblázat tartalmazza a modell együtthatóit, az együtthatók standard hibáit, a szabadsági fokokat és az együtthatókra vonatkozó teszteket. A tojók átlagosan 9g-mal nehezebbek a hímeknél.

Félszárnyhossz	Becslés (mm)	Standard hiba	Szabadsági fok	t-érték	p-érték
Hím	142.75	4.63	22	30.83	0
Tojó-Hím	3.52	2.69	22	1.31	0.2046

3. táblázat: A fiókák félszárnyhossz értékeire illesztett általános lineris kevert modell együtthatói, standard hibáik, a szabadsági fokok és az együtthatókra vonatkozó tesztek. A mintába került hím és tojó fiókák félszárnyhossza közt nincs szignifikáns különbség.

3.3.2. *Degeeriella rufa*

A modell két kiinduló magyarázó változója, az ivar és testméret-index közül csak az utóbbinak volt szignifikáns hatása a *Degeeriella rufa* mennyiségére (4. táblázat). Hogy megállapítsam, hogy a testméret-index melyik komponense milyen mértékben befolyásolja a függő változót, a félszárnyhossz és a tömeg változókat külön egy új modellbe építettem. Itt csak a félszárnyhossz bírt szignifikáns magyarázó erővel (5. táblázat). Az adatok alapján az ivari különbségek, köztük a tojók és a hímek közti tömegbeli eltérés nem befolyásolja szignifikánsan a *D. rufa* mennyiségét a fiókákon.

<i>Degeeriella rufa</i>	Becslés	Standard hiba	Szabadsági fok	t-érték	p-érték
Hím	-1.062	0.885	21	-1.20	0.2433
Tojó-Hím	-0.003	0.219	21	-0.01	0.9888
Testméret-index	0.009	0.004	21	2.38	0.0267

4. táblázat: Egy fiókán előforduló *D. rufa* egyedek számának négyzetgyökét leíró első hierarchikus kevert modell (LME) együtthatói, az együtthatók standard hibái, szabadsági fokai és az együtthatókra vonatkozó tesztek. Csak a testméret-index bizonyult szignifikáns befolyásoló tényezőnek.

Degeeriella rufa	Becslés	Standard hiba	Szabadsági fok	t-érték	p-érték
Intercept	-3.323	1.620	21	-2.05	0.053
Tömeg	0.003	0.010	21	0.40	0.694
Félszárnyhossz	0.026	0.011	21	2.34	0.029

5. táblázat: Egy fiókan előforduló *D. rufa* egyedek számának négyzetgyökét leíró második általános lineáris kevert modell (LME) együtthatói, a hozzájuk tartozó standard hibák, a szabadsági fokok és az együtthatókra vonatkozó tesztek eredményei. A testméret-indexet komponenseire bontva, a félszárnyhossz bizonyult szignifikáns magyarázó változónak.

3.3.3 *Colpocephalum subzerafae*

A modellbe épített két fix hatás, a testméret-index és az ivar közül csak a fiókák ivarától függött szignifikánsan a *Colpocephalum subzerafae* egyedek száma az egyes fiókákban (6. táblázat), a tojókon átlagosan 17%-kal több *C. subzerafae* egyed található a hím fészektestvéreikhez képest. A modell eredményei szerint a *C. subzerafae* egyedek mennyiségét egy fiókan nem befolyásolja szignifikánsan annak kora, fejlettsége vagy kondíciója. A két ivar átlagos tömegbeli eltérése önmagában nem magyarázza hím és tojó fészektestvérek közt megfigyelt különbséget.

<i>Colpocephalum subzerafae</i>	Becslés	Standard hiba	Szabadsági fok	t-érték	p-érték
Hím	1.524	1.432	21	1.06	0.299
Tojó-Hím	0.628	0.265	21	2.37	0.028
Testméret-index	-0.001	0.006	21	-0.24	0.815

6. táblázat: A *C. subzerafae* mennyiségének négyzetgyökére illesztett általános lineáris kevert modellben (LME) lévő együtthatók, a hozzájuk tartozó standard hibák, szabadsági fokok és az együtthatókra vonatkozó tesztek. A *C. subzerafae* abundanciáját a fióka ivara befolyásolja szignifikánsan.

3.3 A felnőtt madarak fertőzöttségét befolyásoló tényezők

3.3.1 *Degeeriella rufa*

A *Degeeriella rufa* a vizsgált madarak több mint felén megtalálható volt, azonban a két ivar közt nem egyenlően oszlanak el. A tojókon gyakrabban fordulnak elő, nagyobb intenzitás értékek mellett, mint a hímeken. Emellett az aggregáltság mértéke nagyságrendi eltérést mutat a mintában az abundancia varianciájának és átlagának hányadosával számolva (7. táblázat).

<i>Degeeriella rufa</i>	Hímek N=27	Tojók N=33	Összes N=60
Parazita egyedek száma	27	200	227
Prevalencia	42,3%	66,7%	55,9%
95%-os KI	24,6% - 61,7%	48,5% - 80,6%	43,2% - 68,19%
Átlagos intenzitás	2,18	9,09	6,79
95%-os KI	1,64 - 2,45	5,23 - 16,18	4,21 - 12,03
Medián intenzitás	2	4	2
KI	96,7%: 2 - 3	97,4%: 1 - 11	95,8%: 2 - 3
Aggregáltság	1,55	19,81	19,35

7. táblázat A felnőtt madarak *Degeeriella rufa*-val fertőzöttségét jellemző statisztikák. A tojók nagyobb arányban és intenzívebben fertőzöttek, mint a hímek. A faj eloszlása jóval aggregáltabb a tojókon, mint a hímeken.

A felnőtt madarak *Degeeriella rufa*-val való fertőzöttségének leírására negatív binomiális modellt használtam. Az illesztett modell szerint a *D. rufa* egyedek száma szignifikánsan nagyobb a tojó madarakon a hímekhez viszonyítva. A faj abundanciája a félcsárnyhosszal nő, illetve a költéskezdés óta eltelt napok számával csökken (8. táblázat).

<i>Degeeriella rufa</i>	Becslés	Standard hiba	z-érték	p-érték
Hím	0,027	0,299	0,092	0,927
Tojó-Hím	0,750	0,365	2,055	0,039
Költéskezdés óta eltelt napok száma	-0,074	0,014	-5,128	<0,001
Félcsárnyhossz	0,072	0,024	2,960	0,003

8. táblázat: Az adult madarak *Degeeriella rufa*-val való fertőzöttségét leíró negatív binomiális modell együtthatói, a becslések standard hibái és az együtthatókra vonatkozó tesztek. A tojók fertőzöttsége szignifikánsan magasabb a hímekénél, a faj mennyisége a félcsárnyhosszal nő, és a költéskezdés óta eltelt napok számával csökken.

3.3.2 *Colpocephalum subzerafae*

A *Colpocephalum subzerafae* prevalenciája alacsonyabb volt a mintában, mint a *Degeeriella rufa*-é, azonban a tapasztalt intenzitás értékek magasabbak voltak. A fertőzöttségben itt is különbség adódik az ivarok közt, mind a prevalencia, mind az intenzitásértékek magasabbak a tojó madarak esetében (9. táblázat).

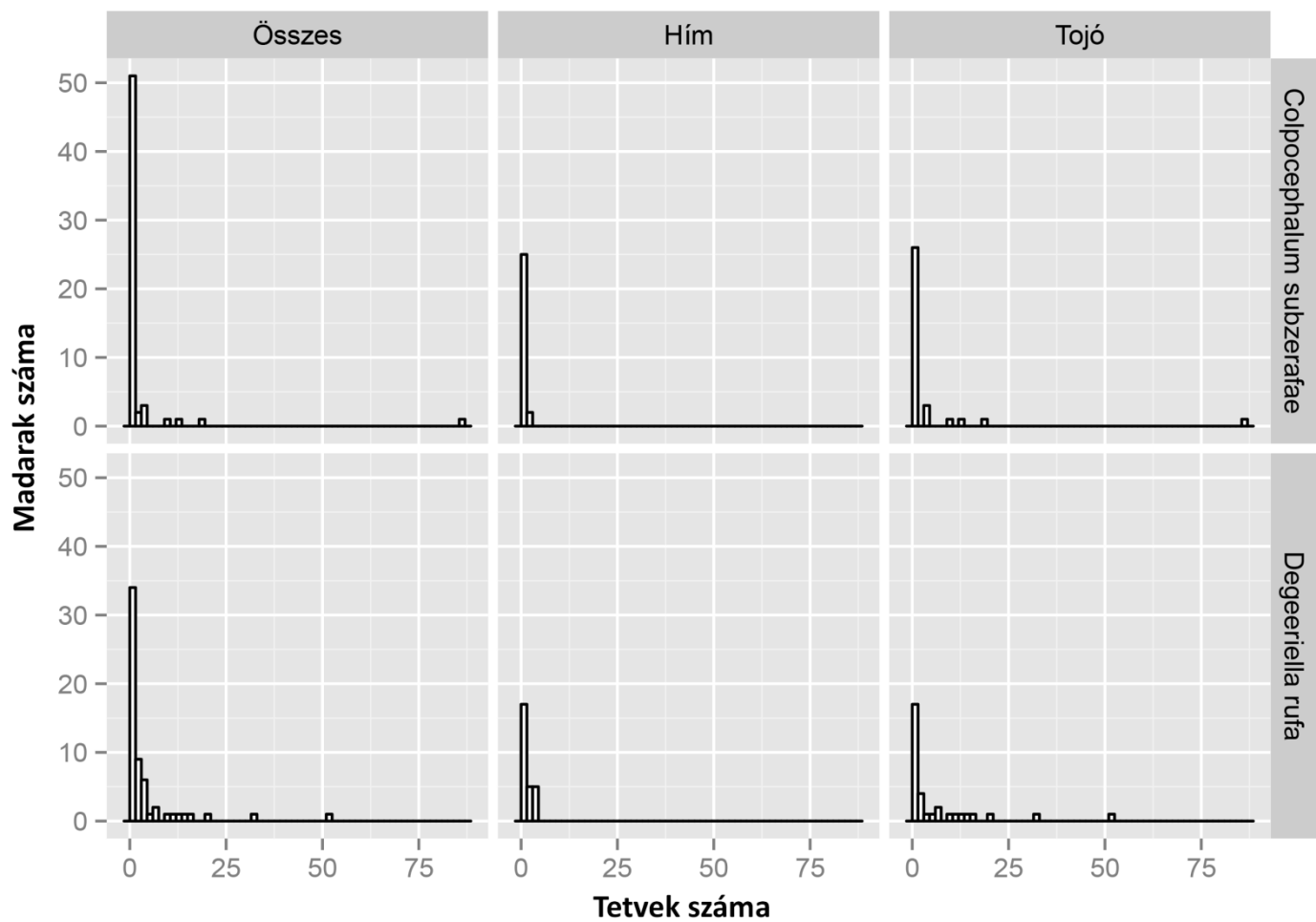
<i>Colpocephalum subzerafae</i>	Hímek N=27	Tojók N=33	Összes N=60
Parazita egyedek száma	6	139	145
Prevalencia	15,4%	24,2%	20,3%
95%-os K.I.	5,44% - 34,4%	11,7% - 42,3%	11,6% - 32,9%
Átlagos intenzitás	1,5	17,38	12,08
95%-os K.I.	1 - 1,75	5,88 - 48,25	4,17 - 37,08
Medián intenzitás	1,5	7	3,5
K.I.	NA	96,1%: 1 - 18	98%: 1 - 13
Aggregáltság	1,49	55,24	53,91

9. táblázat A felnőtt madarak *Colpocephalum subzerafae*-vel való fertőzöttségének leíró statisztikái. A faj prevalenciája és intenzitása magasabb a tojókon, eloszlásuk is jóval aggregáltabb.

A *Colpocephalum subzerafae* előfordulásának és számának vizsgálatához zéróinflált negatív binomiális modellt használtam, az alacsony prevalencia miatt. A költéskezdés óta eltelt napok száma csökkenti a *C. subzerafae* előfordulásának valószínűségét. Szignifikánsan több egyed fordult elő a tojókon, számuk itt is a szárny hosszával nő (10.táblázat).

Negatív binomiális modell a gyakoriságokra				
<i>C. subzerafae</i>	Becslés	Standard hiba	z-érték	p-érték
Hím	-0.265	0.843	-0.315	0.753
Tojó	4.370	0.969	4.510	<0,001
Költéskezdés óta eltelt napok	0.058	0.051	1.139	0.255
Félszárnyhossz	-0.122	0.057	-0.122	0.034
Binomiális modell a nullákra				
	Becslés	Standard hiba	z-érték	p-érték
Hím	0.691	1.169	0.591	0.555
Tojó-Hím	1.249	1.316	0.949	0.343
Költéskezdés óta eltelt napok	0.112	0.045	2.481	0.013

10. táblázat A *Colpocephalum subzerafae* előfordulását és mennyiségét leíró zéróinflált negatív binomiális modell együtthatói, a becslések standard hibái, és az együtthatókra vonatkozó tesztek eredményei. A költéskezdés után eltelt napok számával csökken a faj előfordulásának valószínűsége mindkét ivar esetében. A tojó madarakon több egyed található a hímekhez viszonyítva, a nagyobb szárnyhosszal rendelkező madarakon több tolltetű található.



4. ábra: A felnőtt madarak eloszlása a *D. rufa*-val és a *C. subzerafae*-vel való fertőzöttség abundancia osztályai között. A vizsgált madarak száma összesen 60, a hímek száma 27, a tojóké 33.

3.4 A fészekaljok fertőzöttsége

Mivel az egy fészekaljban nevelkedő fiókák tolltetveiket ugyanazoktól a szülőktől kapják, egymással szoros fizikai kontaktusban vannak, a fertőzöttségük mértéke nem független egymástól. Az egyes fészekaljok mérete eltérő lehet, így a leíró statisztikák közül a fészekaljok prevalenciájával lehet jellemezni az egyes kezelési csoportokat. A legmagasabb prevalencia értéket a mintában a kontroll csoportnál kaptam mindkét tolltetű faj esetében. A *D. rufa* a hím kezelt csoportban, míg a *C. subzerafae* a tojó kezelt csoportban mutatott magasabb prevalencia értéket a mintában. A tojó kezelt csoportban nem volt *D. rufa*-val fertőzött egyed.

Prevalencia (fészekaljok)	Kontroll N=30	Hím kezelt N=10	Tojó kezelt N=12
<i>Degeeriella rufa</i>	83%	60%	0%
KI 95%	65% – 93%	29% - 85%	0% - 24%
<i>Colpocephalum subzerafae</i>	47%	10%	17%
KI 95%	30% - 65%	1% - 45%	3% - 46%

11. táblázat Az egyes kezelési csoportokba tartozó fészekaljok prevalencia értékei a két vizsgált tolltetű fajnál. Mindkét faj esetében a kontroll csoportban mért prevalencia értékek a legmagasabbak.

3.4.1 *Degeeriella rufa*

A tojó kezelt csoportban nem volt *D. rufa*-val fertőzött egyed, ezért ezt a csoportot ki kellett hagyni a modellből. A hím kezelt csoportban a fiókák fertőzöttsége szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll csoporthoz képest.

<i>Degeeriella rufa</i>	Becslés	Standard hiba	z-érték	p-érték
Kontroll	0.363	0.003	110.70	< <0,001
Hím kezelt	-1.973	0.463	-4.26	< <0,001

12. táblázat A fiókák *D. rufa* fertőzöttségét a kontroll és a hím kezelt kísérleti csoportban leíró negatív binomiális modell együtthatói, a becslések standard hibái, és az együtt hatókra vonatkozó tesztek. A fiókák fertőzöttsége szignifikánsan alacsonyabb a hím kezelt csoportban.

3.4.2 *Colpocephalum subzerafae*

Az egyes kezelések hatását a fiókák *C. subzerafae* fertőzöttséget szintén negatív binomiális modellel elemeztem, a csoportok többszörös összehasonlításával. A fiókák fertőzöttsége szignifikánsan alacsonyabb volt a hím kezelt és a tojó kezelt csoportban a kontroll csoporthoz képest. A hím kezelt és a tojó kezelt csoport közt nem volt kimutatható különbség.

<i>Colpocephalum subzerafae</i>	Becslés	Standard hiba	z-érték	p-érték
Kontroll – Hím kezelt	-3.304	1.337	-2.471	0.020
Kontroll – Tojó kezelt	-2.148	0.985	-2.182	0.041
Tojó kezelt – Hím kezelt	1.156	1.526	0.757	0.999

13. táblázat Az egyes kísérleti kezelések hatása a fiókák *C. subzerafae*-vel való fertőzöttségére. A fiókák szignifikánsan kevesebb toltetű van jelen a két kísérleti csoportban a kontroll csoporthoz képest. A hím kezelt és tojó kezelt fészekaljak közt nincs kimutatható különbség.

4. Diszkusszió

Dolgozatomban megvizsgáltam, hogy milyen tolltetű fajok élnek a Cserebökényi, Vásárhelyi- és Csanádi-pusztákon, illetve a Pó-síkságon költő kék vércséken. Megvizsgáltam, hogy a rajtuk előforduló két leggyakoribb faj hasonló módon terjed-e a hím és a tojó fiókák közt, és a tapasztalt különbségek megmaradnak-e a felnőtt madarakon is. Ezen kívül egy in-situ kísérletet végeztem arra nézve, hogy a hímek és a tojók egyenlő mértékben járulnak-e hozzá fiókáik tolltetű populációjához.

A vizsgálat során a tolltetű faunisztika szempontjából is született új eredmény. A *Laemobothrion tinnuculi* előfordulását eddig még nem írták le kék vércsén (Price et al. 2003). A faj a *Falco* nemzettség több tagján is előfordul, többek közt az amerikai tarka vércsén (*Falco sparverius*) (González-Acuña et al. 2011), a kozmopolita vándorsólymon (*Falco peregrinus*), (Nelson and Price 1965) találhatjuk meg, hazánkban pedig a vörös vércséről (*Falco tinnunculus*), a kabasólyomról (*Falco subbuteo*) és a kis sólyomról (*Falco columbarius*) ismert (Vas et al. 2012). A faj prevalenciája nagyon alacsony volt a mintában, azonban két egymástól földrajzilag távol eső költőhelyen is megtaláltam őket. Ez az eset jelzi, hogy a faunisztikai kutatások során is törekedni kell arra, hogy minél több egyedről gyűjtsünk mintát, különben a ritkábban előforduló gazda-parazita kapcsolatok könnyen rejtve maradhatnak előlünk.

Eredményeim szerint hazánkban a *Degeeriella rufa* és a *Colpocephalum subzerafae* számít a kék vércsék két leggyakoribb tolltetvének. Ezen kívül a kék vércse elterjedési területétől távol élő madárfajokon is megtalálhatóak, például a *D. rufa* a *Falco novaeseelandiae*-n (Pilgrim and Palma 1982), vagy a *C. subzerafae* a tarka vércsén (Tendeiro 1988). Azt hogy a tetvek, és általában a paraziták, követhetik gazdáik leszármazási viszonyait (Fahrenheit-szabály) (Vas et al. 2012a), már fajon belül is leírták a galapagoszi ölyveknél (*Buteo galapagoensis*) (Koop et al. 2014). Így felmerül a kérdés, hogy olyan tetűfajok populációi amik évszázadek óta elvált, egymással nem érintkező madárfajokon is előfordulnak, nem távolodtak-e el egymástól hasonlóan gazdafajaikhoz? Milyen gyakori a fajok közötti horizontális transzmisszió, és segíthet-e enyhíteni a többszintű beltenyésztésből eredő terhet? Vagy ez a génáramlás épp lassíthatja-e a parazita szempontjából oly kedvezőnek vélt kospeciáció folyamatát? Ez a két faj olyan madarakon is megtalálható, amik akár a kék vércsékkel egy telepen is költhetnek, mint például a vörös vércse (*Falco tinnunculus*) hazánkban (Vas et al. 2012b) vagy a fehérkarmú vércse (*Falco naumanni*) Olaszországban (Price et al. 2003). Ezeken a telepeken valószínűleg gyakrabban adódhat alkalom fajok

közötti horizontális transzmisszióra, így jó kísérleti terepet jelenthetnek a fenti kérdések megválaszolásához. Ehhez azonban először ismernünk kell, hogy mi befolyásolja a tetvek terjedését a jóval gyakoribb szülő-utód útvonalon.

Egy fiatal fiókára való átterjedés kockázatos, de megadja a lehetőséget, hogy a tetű több gazda egyed közt is válogathasson. A két vizsgált faj eltérő preferenciát mutatott a mintában, melynek oka eltérő életmódjukban és testfelépítésükben is keresendő. A *Degeeriella rufa* abundanciáját a fiókák felszárnyhossza befolyásolta szignifikánsan, ami jól jelzi tollazati fejlettségük szintjét. Elgondolásom szerint, ennek a tollazatban való mozgáshoz erősen alkalmazkodott fajnak akkor érdemes átterjednie a fiókákra, amikor azok már számára megfelelő étletteret tudnak biztosítani. Az sem zárható ki, hogy a specializált mozgásszervei miatt több idő szükséges az átterjedéshez, így a fióka korának előre haladtával egyre több *D. rufa* egyed jelenik meg a fiókákon.

A *Colpocephalum subzerafae* abundanciáját a fiókákon csak a gazda ivara befolyásolta szignifikánsan, fejlettségük nem. Ez talán annak tudható be, hogy a tollak anyagán kívül más táplálékot is tudnak fogyasztani, és mozgásszerveik kevésbé specializáltak. A gazda fejlettsége valószínűleg kevésbé limitálja őket, így lehetőségük nyílna más szempont szerint is választani a fiókák közt. Fiókakorban a két ivar tollazata nagyon hasonló. Elképzelhető, hogy már ebben a korban is alakulnak ki olyan különbségek az ivarok között, amik rövidtávon is kedvezőbb gazdává teszik a tojó fiókákat. Mire a nagymértékű ivari dimorfizmus kialakul a másod-, illetve harmadéves madaraknál, a kolonizációban résztvevő tetvek utódainak sokadik generációja él már a madáron. Azonban, ha a tojó fiókák iránt preferenciát mutató tetvek utódai sikeresebben tudnak szaporodni mikor a madár megérte a felnőtt kort, az már akár önmagában elég lehet egy ivarfüggő vertikális transzmissziós stratégia elterjedéséhez.

A kapott eredmények szerint a felnőtt tojó madarakon valóban magasabb *C. subzaerafae* mellett a *D. rufa* abundanciája is, emelet az eloszlásuk is különböző a két ivarnál. A tojóknál több erősen fertőzött madár fordult elő a mintában. Annak, hogy nagyobb infrapopulációkat tudnak létrehozni a tojókon részben eltérő okai lehetnek a két fajnál. A tojók tollruhája sokkal kevésbé melanizált, szemben a sötét színezetű hímekével. Korábbi vizsgálatok alapján a valószínűsíthető, hogy a tojók világosabb tollai az alacsonyabb melanin tartalom miatt a hímekénél jobb táplálékforrást jelenthetnek, mivel az erősen melanizált tollak keményebbek és nehezebben emészthetőek a tolltetvek számára (Bonser 1995), (Kose and Møller 1999). A főleg csak a tollak anyagával táplálkozó *D. rufa* számára valószínűleg ez különösen fontos tényező lehet. Míg a hasonló színezetű fiókákon a két ivar közt nem volt

kimutatható különbség a faj abundanciájában, az adult tollruha megjelenése után már szignifikáns eltérés tapasztalható. Ez a felnőtt korra kialakuló, ivarfüggő fertőzöttségi mintázat azt sugallja, hogy a hímek és a tojók eltérő minőségű élőhelyet nyújtanak a tolltetvek számára.

Emellett más okok is magyarázhatják a jelenséget, mivel a *C. subzerafae* egyedek már fiókakorban nagyobb számban találhatók meg a tojókon. A két ivar nemcsak külsejében, hanem viselkedésében is eltér. Bár a kék vércsénél a hím és a tojó is kiveszi a részét az utódgondozásból, szerepük eltérő (Kiss 2011). A tollazattal rendelkező fiókákkal inkább a tojó kerül gyakrabban fizikai kapcsolatba. Azzal, hogy már fiókakorban tojó gazdára terjednek tovább, a tolltetvek növelhetik utódaik esélyét a jövőbeli vertikális transzmisszióra, jelentős előnyhöz juttatva őket ezzel. Egyelőre hiányos ismeretekkel rendelkezünk a kék vércsék párválasztási rendszeréről és életmenetének részleteiről. Nem zárható ki az sem, hogy eltérnek az egyes ivarok szaporodási vagy túlélési esélyei.

A kék vércsék ivari sajátosságai mellett más tényezők is befolyásolták a vizsgált tolltetű fajok abundanciáját. A tetvek mennyisége a testméretet jellemző félszárnyhosszal nő, ami jelzi, hogy az élőhelyfolt mérete egy ilyen specializált életmódú állatnál is fontos szerephez jut az egyedszám szabályozásában.

Az eredmények alapján szezonális változások ebben a gazda-parazita rendszerben is megjelennek, ami a madarak tolltetű állományának a fiókák kikelése előtti feldúsulásában nyilvánul meg. Nem zárható ki, hogy a jelenség mögött a tolltetvek vertikális transzmisszióra való felkészülése áll. Ennél egyszerűbb magyarázat lehet, hogy a költési időszakban a madarak kevesebb energiát tudnak fordítani a paraziták elleni viselkedésre (Anders Pape Møller and Rózsa 2005).

A vertikális transzmissziónak kiemelt jelentősége van a kék vércsék tolltetvekkel való fertőződésében. A szülőkkel és a fészektetvérekkel való érintkezés után kiszámítható, hosszabb időtartamú fizikai kontaktusra két madár közt legközelebb majd a párzás, illetve a fiókanevelés időszakában kerül sor másod-, de jellemzően harmadéves korban. Egy kék vércse tolltetű populációja fiatal korban jellemzően két irányból érkezhethet, a tojó, vagy a hím szülőtől. Az hogy egy fióka milyen arányban örökli parazitáit egyik vagy másik szülőtől nem feltétlenül egyenlő, főleg ha a fertőzöttség mértékében különbség van az ivarok közt, mint azt korábban láthattuk. Előzetes ismereteim alapján azt prediktáltam, hogy azokban a fészekaljokban, ahol a tojó szülő ektoparazitáit piretrines kezeléssel korábban megöltem,

alacsonyabb fertőzöttséget fogok tapasztalni a hím kezelt, illetve a kontroll fészekaljok fiókáihoz képest. A kísérlet eredményei csak részben feleltek meg várakozásaimnak. A kontrollhoz képest, mindkét kezelési csoportban drasztikusan lecsökkent a fiókák tolltetveinek száma, de a hím és tojó kezelt csoport közt nem volt kimutatható különbség. A jelenségnek több magyarázata is lehetséges. Elképzelhető, hogy a felnőtt madár tollazatában maradt piretrines porból a költőládába is kerülhetett, így lehet, hogy a rovarölő nem csak a célegyeden, hanem később annak fiókáin is kifejthette hatását. A kísérletet érdemes lenne emiatt egy másik módszer használatával, például az ölüüveges megoldással (Rózsa 2003) megismételni, így megállapítható lenne, hogy az eredményeket módszertani problémák befolyásolták-e.

A kapott eredményre magyarázatot adhat a paraziták egyedek közti sajátos, aggregált eloszlása is. A pár egyik, a kezelés miatt az ektoparazitáktól biztosan mentes tagja nagy valószínűséggel egy olyan madárral áll párban ami nem, vagy kevés tetűvel fertőzött. Így a mintába bevont fészekaljok nem kezelt szülő tagján valószínűleg csak elvétve fordult elő akkora tolltetű infrapopuláció, amely érdemben képes lett volna a fiókák kolonizációjára. Az eredmények alapján úgy tűnik, hogy a vizsgált rendszerben mindkét szülő hozzájárulása szükséges ahhoz, hogy stabil tolltetű infrapopulációk alakuljanak ki a fiókákon. Ez segít a *C. subzerafae* gazdaivar-függő terjedési mintázatának megértésében is. Egy a kedvezőbb élőhelyet és transzmissziós esélyeket nyújtó ivar kizárólagos választását magába foglaló stratégia nem maradhatna fenn, mivel az hamar a populáció összeomlásával járna.

Vizsgálatom hozzájárult a kék vércséken élő tolltetvek ökológiájának jobb megértéséhez, azonban még számos megválaszolatlan kérdés maradt. Eddig csak költési időszakban történt mintavétel, ahhoz hogy a tolltetű abundancia szezonálisitását teljesen felmérjük, szükséges lenne a telelőterületen is mintát gyűjteni a madaraktól. A kolonialitás és az egyedsűrűség hatását a vizsgált fajok populáció struktúrájára egy nagyobb elemszámú, erre fókuszáló mintavétellel lehetne vizsgálni. Más fajoknál már kimutatták, hogy a tolltetvek csökkenthetik a madarak hosszútávú túlélési esélyeit (Brown et al. 1995), ezt a kék vércsénél, mint fokozottan védett fajnál különösen érdemes lenne vizsgálni.

5. Összefoglalás

A paraziták viselkedése alig kutatott, pedig a gazdákhoz való alkalmazkodásukat nemcsak morfológiai vagy biokémiai tulajdonságaik segítik. A tolltetvek (Insecta: Phthiraptera) obligát ektoparaziták, gazdák testi érintkezésével terjednek, amire leginkább a szülő-utód kapcsolat kínál lehetőséget. Munkámban azt vizsgáltam, hogy a szülőkről hasonlóan terjednek-e a hím és a nőstény fiókákra, a tapasztalt különbség megmarad-e a felnőtt madarakon is, és mindez befolyásolja-e az apa, illetve az anya hozzájárulását a fiókáik tolltetű populációjához. A vizsgálatot a fokozottan védett madarunkon, a kék vércsén (*Falco vespertinus*) és tolltetvein végeztem.

A vizsgálatot a Körös-Maros Nemzeti Park területén a MME Kékvércse-védelmi Munkacsoportjának segítségével végeztem. Az ektoparaziták legyűjtése piretrin tartalmú rovarölő porral történt. 2012-ben fészekaljanként egy-egy feltehetően tojó és hím fiókától vettem mintát. A fiókák ivarának meghatározásához PCR alapú módszert használtam. 2014-ben a fiókanevelés megkezdése előtt a pár egyik, hím vagy tojó tagjáról gyűjtöttem le tetveket, később a fészekaljuk összes fiókájáról. A gazdatulajdonságainak tolltetű fertőzöttségre gyakorolt hatását általánosított lineáris modellekkel elemeztem. A madarakon négy tetűfajt találtunk, mely közül egyet eddig csak család szintig sikerült meghatározni (Amblycera: Menoponidae), a *Laemobothrion tinnunculi*-nak pedig ez az első ismert előfordulása kék vércsén. A *Colpocephalum subzerafae* a fejlődő tokos tollak megrágása mellett hámtörmelékkel és vérrel, míg a *Degeeriella rufa* a tollak anyagával táplálkozik. A *C. subzerafae* abundanciáját a fiókákon a gazda ivara befolyásolta, a tojókon hím fészektestvéreikhez képest szignifikánsan több volt. A *D. rufa* abundanciáját ugyanakkor a fióka korát és fejlettségét jellemző félszárnyhossz befolyásolta szignifikánsan. A *C. subzerafae* mennyisége az adult madarakon a testméretet jellemző paraméterekkel nő, illetve a költéskezdés óta eltelt napok számával csökken, a tojókon szignifikánsan több egyed található. A felnőtt madarak *D. rufa*-val való fertőzöttsége a félszárnyhosszal, a költéskezdés óta eltel napok számával nő, és szignifikánsan nagyobb a tojók esetében. A tolltetvek kiirtása a szülőpár egyik tagjáról alacsonyabb fertőzöttséget eredményez a fiókáikon, a kontroll fészekaljához viszonyítva. A két kezelt csoport (tetvek hím vagy nőstény szülőről irtva) között szignifikáns különbséget nem találtam.

A kék vércse két leggyakoribb tetűfajánál ivarfüggő fertőzöttségi mintázatokat mutattam ki, a *C. subzerafae* esetében már a vertikális transzmisszió során is. A *D. rufa* feltehetően eltérő terjedési stratégiát alkalmaz, csak akkor terjed át a fiókákra, amikor azok

tollazati fejlettsége már megfelelő számára. Az eredmények alapján a gazda ivara önmagában is hatással lehet a paraziták fitneszére, egyes élősködők ennek megfelelő egyenlőtlen terjedést mutatnak.

6. Summary

Experimental Study of Lice Transmission Strategies on a Raptor Host

The ethology of parasites has not been widely studied despite that not just biochemical and morphological properties help them to adopt to the host. Avian lice (Insecta: Phthiraptera) are permanent obligatory ectoparasites, they predominantly spread during physical contact between hosts, which occurs most frequently during parental care (vertical transmission) in birds. In my study I examined how lice select among offsprings during vertical transmission, how this host preference affects lice distributions in adult birds and how this pattern is passed on to subsequent generations. My study focuses on louse species parasitizing the Red-footed Falcon (*Falco vespertinus*), a raptor of high international conservation concern.

Field work was carried out in Körös-Maros National Park with aid of MME-Birdlife Hungary's Red-footed Falcon Working Group. The ectoparasites were collected with dust-ruffling. In 2012 I sampled a presumed male and/or female from each nest, their sex was later confirmed with PCR based methods. In 2014 I sampled the male or female member of a given pair in the early breeding season, and later I sampled the entire clutch. The effects of various properties of the host on the quantity of the lice was analysed with generalised linear models. Four lice species were found on the birds out of which one could not be identified exactly, it belongs to the family Menoponidae of suborder Amblycera. We also found a previously undescribed louse on Red-footed Falcons; the *Laemobothrion tinnunculi*. The most abundant louse species were *Colpocephalum subzerafae* (feeds on contour feathers, skin and blood), and *Degeeriella rufa* (only feeding on the material of larger feathers). Host sex had a significant effect on *C. subzerafae* abundance, while *D. rufa* abundance depended on wing length (describes the age of the nestlings)in case of nestling birds. The quantity of the *C. subzerafae* on adult birds depended on parameters describing body size, increased over time during the sampling period and was also significantly higher on female birds. The chance of being infested with *D. rufa* increased with host wing length and was also higher for female birds. Wiping out the ectoparasites from one of the parents caused a significant decrease in lice prevalence and intensity on their nestlings compared to the control group. However, I did not find any significant difference between the two treatment groups (ectoparasites were removed either from the male or the female parent).

The two most common louse species of Red-footed falcons showed sex dependent infestation patterns; in case of *C. subzerafae* this pattern was also observable after vertical transmission. The *D. rufa* presumably uses a different transmission strategy, waiting for the

new host to develop as mature plumage as possible. My results indicate that the sex of the host by itself can have an effect on the fitness of parasites and some species show unequal transmission patterns.

Köszönetnyilvánítás

Legelőször köszönöm témavezetőim: Dr. Harnos Andrea, Dr. Rózsa Lajos és Fehérvári Péter útmutatásait és segítségét. Dr. Vas Zoltánnak a parazitológia minták meghatározását és szakmai észrevételeit. Köszönöm mindenkinek, aki lehetővé tette és segítette a terepi mintagyűjtést: Balogh Gábornak, Engi Lászlónak, Fajka Diánának, Horváth Évának, Kotymán Lászlónak, Lázár Bencének, Mészáros Csabának, Őze Péternek, Palatitz Péternek, Saliga Rebekának, Simon Gergelynek, Solt Szabolcsnak, Soltész Zoltánnak és Széles Zsaklinnak. Továbbá köszönöm a SZIE ÁOTK, Biológiai Intézet Konzervációgenetikai Munkacsoport munkatársainak és szakdolgozóinak: Szabó Krisztiánnak, Dr. Vili Nórának Dr. Pásztory-Kovács Szilviának, Nemesházi Edinának és Papp Ritának, hogy tanácsaikkal segítették munkámat. Végül pedig családomnak, akik végig támogattak tanulmányaim és szakdolgozati munkám során.