

**TARTU ÜLIKOOL  
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT  
ZOOLOOGIA OSAKOND  
LOOMAÖKOLOOGIA ÕPPETOOL**

**Kristel Zimmermann**

**Vanemate biokeemiliste konditsiooniindeksite seos  
poegade kasvu ja tervisega väikealgi (*Alle alle*) näitel**

Magistritöö

Juhendaja: Tuul Sepp, Phd

Tartu 2022

**Vanemate biokeemiliste konditsiooniindeksite seos poegade kasvu ja tervisega väikealgi  
(*Alle alle*) näitel**

Vanemad mõjutavad oma järglaste fenotüüpi geneetiliste ja mittegeneetiliste meetoditega. Töö eesmärk oli uurida Arktikas elava merelinnuliigi väikealgi vanemlindudel mõõdetud oksüdatiivse stressi markerite - DNA kahjustuste ning antioksidantide kusihappe ja glutatiooni tasemetega seost nende poegade kehasuuruse ja oksüdatiivse stressi tasemega. Antud uurimistöös ei leitud enamikel vanemate biokeemilistel näitajatel olevat seost järglaste tervisliku seisundiga, aga kahes punktis leiti oluline seos: 1) isade kusihappe tasemel oli seos poegade kaaluga; 2) emade glutatioonitase oli seoses järglaste jooksmepikkustega. Lisaks leiti ka tugev positiivne seos DNA oksüdatiivsete kahjustuste ja lindudel antioksidandina töötava kusihappe taseme vahel nii täiskasvanutel kui poegadel.

B280 Loomaökoloogia

Võtmeõnad: väikealk *Alle alle*, oksüdatiivne stress, glutatioon, kusihape, vanema mõju

**Correlation between parental biochemical indices and chick growth and health in little auk  
(*Alle alle*)**

Parents influence their offspring phenotype through genetic and nongenetic methods. The aim of this study was to investigate the relationship between the oxidative stress markers in parents – DNA damage, antioxidants uric acid and glutathione – to the body size and oxidative stress levels of their chicks in an Arctic seabird species, little auk. In this study, most of the biochemical parameters of the parents were not related to the condition of the offspring, but a significant relationship between parental OS indices and chick growth was found for two traits: 1) the uric acid level of the fathers was correlated to the weight of the chicks; 2) maternal glutathione levels were correlated to the length of the chicks' tarsus. In addition, a strong positive correlation was found between DNA oxidative damage and uric acid levels in both adults and chicks.

B280 Animal ecology

Keywords: little auk *Alle alle*, oxidative stress, glutathione, uric acid, transgenerational effects

# Sisukord

1. Sissejuhatus .....	4
2. Kirjanduse ülevaade .....	6
2.1. Oksüdatiivne stress .....	6
2.2. Oksüdatiivne stressi põlvkondadeülene kandumine .....	7
2.3. Uurimisobjekti iseloomustus .....	9
3. Materjal ja meetodid .....	11
3.1. Materjal .....	11
3.2. Metoodika .....	12
3.2.1. Laborianalüüsid .....	12
3.2.2. Andmeanalüüs .....	13
4. Tulemused .....	15
4.1. Seos kusihaape ja oksüdatiivsete kahjustuste vahel .....	15
4.2. Poegade oksüdatiivse stressi seos poegade suurusega .....	16
4.3. Vanemlindude oksüdatiivse stressi seos poegade suurusega .....	18
4.4. Vanemlindude oksüdatiivse stressi seos poegade oksüdatiivse stressiga .....	22
5. Arutelu .....	24
5.1. Seos kusihaape ja oksüdatiivsete kahjustuste vahel .....	24
5.2. Oksüdatiivse stressi markerid ja poja kasv .....	25
5.3. Vanemlindude oksüdatiivse stressi markerite seos poegade oksüdatiivse stressi markeritega .....	27
Kokkuvõte .....	30
Tänuavaldused .....	32
Kasutatud kirjandus .....	33

# 1. Sissejuhatus

Looduslikes keskkondades inimtegevuse tagajärjel toimuvad muutused pälvivad teaduskirjanduses üha enam tähelepanu, sest võivad avaldada kahjulikku, harvem ka positiivset mõju neis elavatele liikidele. Üheks selliseks liikide rühmaks, kes peavad hakkama saama erinevate ja laialdaste keskkonnamuutuste tagajärgedega on merelinnud. Nad on üsna ohustatud rühm teiste liigirikaste linnurühmade seas, kusjuures eriti ohustatuks peetakse avamerel tegutsevaid liike. Merelindudest on ca 31% liike ülemaailmselt ohustatud ja 11% liikidest on ohualtis staatuses (Dias et al. 2019). Enamikul merelindudel on pigem väiksemad pesitsusasarukonnad ning arvatakse, et paljudel liikidel on populatsioonide arvukused langustrendis (Croxall et al. 2012). Need tegurid teevad merelinnud vastuvõtlikumaks erinevatele elupaigamuutustele.

Merelinnud puutuvad kokku mitmete erinevate ohtudega. Peamisteks neist on invasiivsed liigid (mõjutab 165 liiki 359-st merelinnuliigist), kalastusega kaasnev kaaspüük (100 liiki), lindude jahtimine (97 liiki), kliimamuutused/heitlik ilm (96 liiki) ja elukeskkonna häiritus (73 liiki). Lisaks on negatiivse mõjuga merelindudele ka reostus ja kalade ülepüük. Soojeneva kliima tõttu hakkavad ka haigustekitajad laiemalt levima. Invasiivsetest liikidest on suures osas rotid ja kassid need, kellel on merelindudele suurim mõju – rotid mõjutavad >100 ja kassid 90 merelinnuliiki. Kaas- ja ülepüügi ohtu võimendavad suureskaalalised kalatööstused. Kliimamuutuste mõju ilmneb peaaesjalikult lindude elupaikade ja -tingimuste muutumisega: näiteks toidu kättesaadavuse vähenemise, ekstreemsete ilmastikuolude suurenenud sageduse ja kolooniate üleujutuse meretaseme tõusu või suurte vihmasadude korral (Dias et al. 2019).

Ka inimtegevusest tulenevad jääkained on lindudele kahjulikud. Näiteks võib välja tuua plastikuosakeste sattumise ookeanidesse, mis on üheks merelinde ohustavaks teguriks. Plastikuosakesed on kahjulikud, sest võivad organismi kuhjuda, samuti võib plastikust erituda organismi mürgiseid aineid (Wilcox et al. 2015). Ka õlireostus võib põhjustada kahju merelindudele, kas siis läbi isendite suremuse või kaudsemalt häirides ökosüsteemi tasakaalu (Votier et al. 2005). Sarnaselt on lindudele ohtlikud ka muud püsivad orgaanilised saasteained ja raskmetallid (Scheuhammer 1987; Hao et al. 2021). Lisaks on inimtegevus seotud ka eelmises lõigus juba mainitud ohtudega.

Keskkonnamuutused võivad põhjustada organismides vaevusi, millel on potentsiaal ka põlvkonnaüleselt edasi kanduda vanematelt järglastele (Guerrero-Bosagna & Jensen 2015). Nii loomudelid kui inimeste epidemioloogilised uuringud on näidanud keskkonnas esinevate muutlike olude - temperatuur, kõikvõimalikud reoained, toidu kvaliteet ja stressiseisund jms - ebasoodsaid tagajärgi vanemate seemne- ja munarakkudele, embrüo arengule ja järglaste tervislikule seisundile (Morgan & Watkins 2019). Seega on liikide populatsioonide säilimise seisukohast oluline, et järglaste ellujäämine ei oleks vanemate nõrgemast tervislikust seisundist väga mõjutatud.

Kui uurimisihiks on erinevate liikide populatsioonide dünaamika iseärasused ja asurkondade püsimise tingimused elupaikades, siis tuleb teadmiseks võtta, et vanemad jätavad jälje oma järglastele. Sellest lähtuvalt on vajalik teada, kui suures ulatuses võivad vanemad oma järglaste tervislikku seisundit mõjutada. Seega on antud lõputöö eesmärgiks uurida väikealkide (*Alle alle*) näitel, kas vanemlindude oksüdatiivne stressitase seostub nende poegade kehasuuruse ja tervisliku seisundiga. Töö aluseks on võetud kolm uurimispunkti: 1) kas väikealgi poegade oksüdatiivse stressi tase seostub nende kehasuurusega; 2) kas vanemate oksüdatiivse stressi markerite ja nende poegade kehasuuruse vahel on seos ja 3) kas vanemlindude oksüdatiivse stressi tasemel on seos nende järglaste oksüdatiivse stressi tasemega. Töö hüpotees on: väikealgi vanemlindude organismis esineval oksüdatiivse stressi tasemel on seos järglaste suuruse ja oksüdatiivse stressi tasemega.

## 2. Kirjanduse ülevaade

### 2.1. Oksüdatiivne stress

Vabad radikaalid ehk reaktiivsed hapnikuühendid on paardumata elektronidega molekulid, mis tekivad rakus toimuvate ainevahetusprotsesside kaudu (Hardy et al. 2021), peamiselt mitokondris toimuva adenosiintrifosfaadi (ATP) sünteesi kõrvalproduktina (Blount et al. 2016). Sellised ühendid on mõõdukas koguses organismile kasulikud, osaledes immuunkaitstes, organismi arengus ja apoptoosis. Tahes-tahtmata esineb vahel olukordi, kus vabu radikaale tootvate protsesside käigus kuhjub neid määral, mis organismi tervist kahjustama võib hakata. Vabade radikaalide kogust hoiavad all spetsiifilised ensüümid ja antioksidandid (näiteks rakkude väliselt lindudel kusihape ja rakkude siseselt glutatioon) (Dowling & Simmons 2009). Oksüdatiivset stressi on defineeritud kui antioksidantide ja oksüdantide paigaltnihkunud tasakaaluseisundit, kus suurema osakaalu on saavutanud hapnikuühendid, mistõttu organismi kaitsvad antioksidandid ei suuda enam oma funktsiooni niivõrd efektiivselt täita. Selline olukord päädib biomolekulite kahjustustega, mis häirib organismi loomulikke biokeemilisi protsesse. Selle tulemusena võib oksüdatiivse stressiga isend jääda ebasoodsasse positsiooni eluspüsimisel ja paljunemisel (Costantini 2008). Oksüdatiivsest stressist põhjustatud kahjustused võivad DNA mutatsioonide või epigeneetiliste meetoditega järglasele kanduda (Metcalf & Alonso-Alvarez 2010). Seega võib vanemate kogetud oksüdatiivse stressi tase mõjutada järglaste fenotüübi kujunemist (Romero-Haro & Alonso-Alvarez 2020).

Oksüdatiivne stress võib ilmneda järgnevate protsesside tagajärjel (Costantini 2008):

- 1) oksüdantide suurenenud produktsioon;
- 2) vähenenud antioksidantide kogus;
- 3) toidust saadud ja antioksidantsete ensüümide aktiivsust tõstvate metallioonide (näiteks magneesium, seleenium, tsink) ammendumine;
- 4) parandus- või asendussüsteemide tõrked.

Lisaks organismisisele mehhanismidele võib oksüdatiivset stressi võimendada ka väliskeskkond. Sellest tingitud stressiseisund võib organismis tekkida kokkupuutumisel mitmesuguste reoainetega, näiteks raskmetallide või pestitsiididega, ultraviolet- ja muu kahjuliku kiirgusega (Aseervatham et al. 2013). Seetõttu on oluline vähendada keskkonnas kahjulike saasteainete hulka, sest vastasel korral nõrgestavad nad elusolendite tervist.

## **2.2. Oksüdatiivse stressi põlvkondadeülene kandumine**

Kuigi teaduskirjandust oksüdatiivsest stressist lindudel võib leida üpris palju, siis artikleid spetsiifilisemalt põlvkondadeülese mõju kohta on juba märksa vähem. Lindude peal tehtud uuringutes on varem leitud, et vanemate kogetud oksüdatiivne stress võib mõjutada järglaste arvu ja kasvu. 2008. aastal selgus Bize et al. uuringu tulemusena, et suurpiiritajate (*Apus melba*) emased, kes olid rohkem vastuvõtlikud oksüdatiivsele stressile, munesid väiksemaid kurnasid, milles munade koorumise tõenäosus oli samuti väiksem, võrreldes nende emaslindudega, kes olid rohkem vastupidavad oksüdatiivsele stressile. Mõjud võivad ulatuda isegi kaugemale kui järgmine põlvkond. Käeoleval aastal avaldati uuring oksüdatiivse stressi põlvkondade vahelisest edasikandumisest ida-põldvuti (*Coturnix japonica*) näitel, kus vaadeldi oksüdatiivsete kahjustuste mõju nii vanemate kui ka nende järglaste paljunemissooritusele ning ilmnes, et emade oksüdatiivsete kahjustuste tase viljastamisel oli negatiivses seoses nende tütarde järglaste koorumiseduga. Isade puhul selgus, et nende oksüdatiivsete kahjustuste tase oli negatiivses korrelatsioonis tütarde munade arvuga, aga positiivses korrelatsioonis nende munade koorumiseduga. Samas, antud artiklis selgitati, et isade vastandlikud stressimõjud tühistavad üksteist ning seetõttu isaslindude oksüdatiivsel stressil ei olnud olulist mõju oma tütarde järglaste hulgale. Ka avastati, et vanemate oksüdatiivsed kahjustused ei mõjutanud oluliselt nende tütarde eluiga ning kehasuurust nii koorumisel kui täiskasvanuna (Romero-Haro et al. 2022). Need uuringud viitavad, et oksüdatiivse stressi mõju võib mõnedel juhtudel, kuid mitte alati ulatuda üle põlvkondade.

Oksüdatiivse stressi põlvkondadeülest mõju on uuritud ka teistes elustikurühmades. 2016. aastal avaldatud artiklis uuriti oksüdatiivse stressi mõju vöödilise mangusti (*Mungos mungo*) paljunemisele ja ellujäämisele, mille tulemusena selgus, et emastel, kellel oli tiinusperioodil

suurem malondialdehüüdi (oksüdatiivse stressi biomarker) tase, oli vähem järglasi ning nende poegade tõenäosus ellu jääda oli samuti väiksem (Vitikainen et al. 2016). Wang et al. 2019 täheldasid troopilise kalaliigi *Oryzias melastigma* puhul, et vanematele manustatud 20 µg/L mikroplastikut polüstüreeni tõstis nende oksüdatiivse stressi taset ja vähendas sealjuures nende järglaste koorumisedu, lisaks ka kehapikkust ja südamelööke. Samal aastal avaldati ka artikkel kirpvähilisest *Gammarus locusta*-st, keskendudes sellele, kuidas suurenenud CO<sub>2</sub> hulk ookeanis tema populatsioone võiks mõjutada. Selgus, et vanema proteoomis tekkinud oksüdatiivne stress piiras DNA parandusmehhanismide tõhusust järglastes (Lopes et al. 2019). Dupoué et al. 2020 avastasid, et arusisaliku (*Zootoca vivipara*) emaste suurenenud oksüdatiivsed kahjustused olid negatiivses seoses nende järglaste ellujäämisvõimalusega varases elustaadiumis. Samas artiklis arutleti muuhulgas ka, et suured molekulid nagu näiteks aminohapped ja lipiidid, võivad oksüdantseid molekule ehk reaktiivseid hapnikuühendeid kanda edasi platsenta kaudu emasorganismilt järglasele. Haibo et al. 2021 kasutas mudelorganismina varbussi (*Caenorhabditis elegans*) ning leidis, et 100 µg/L mikroplastiku polüstüreeni manustamine emastele tõstis reaktiivsete hapnikuühendite tootmist ehk teisisõnu oksüdatiivset stressi järgmistes põlvkondades. Ka vastupidiseid tõendeid on leitud ühes artiklis, kus uuriti nerkalõhe (*Oncorhynchus nerka*) oksüdatiivse stressi ja antioksidantide hulka emadel ning järglastel, millest järeldati, et üldiselt põlvkondadeülelt seost oksüdatiivse stressi kogustel ei tuvastatud (Taylor et al. 2015). Sellise tulemuse ümber kerkinud arutluse põhjal pakkusid autorid välja, et järglased võisid ema kaudu saada piisaval hulgal antioksidante, et oksüdatiivset stressi alandada senikaua kuni järglaste endi isiklik antioksidantide süsteem areneb välja. Kokkuvõtvalt nähtub, et ka väljaspool lindude klassi on uuringutes saadud sarnaseid tulemusi oksüdatiivse stressi vanemlikust mõjust.

Oksüdatiivse stressi põlvkondadeülelt mõju on lindudel uuritud ka eksperimendi abil. 2020. aastal avaldatud artiklis uuriti oksüdatiivse stressi põlvkondadevahelist ülekandumist järgmiselt: inhibeerides antioksidant glutatiooni sünteesi sebra-amadiinide (*Taeniopygia guttata*) arenguperioodil, kes siis seejärel suguküpseks saades said järglasi. Lisaks manipuleeriti ka kurnasuurst. Tulemustest järeldati, et vanemate kogetud oksüdatiivne stress arenguperioodil võib avaldada põlvkonnaülelt mõju nende poegadele. Vaadates täpsemalt, et kumb vanem (ema või isa) olid vastutav oma järglase madalas glutatioonisisalduses, siis selgus, et enamikul juhtudel olid emad need, kes mõjutasid oma poegi rohkem, mis on ka loogiline, kuna emadel on selleks rohkem võimalusi (munade sisalduse kaudu). Isade mõju oli oluline järglaste kasvamisperioodil. Huvitava

leiuna toodi artiklis välja, et enne koorumist avalduvad vanemamõjud olid tingitud ka järglase soost: kurnasuuruse manipulatsioonis selgus, et kui muidu oli eelnevalt raporteeritud, et väiksemas kurnas kasvavad suurema kehamassiga pojad ja kuigi see üldiselt leidis kinnitust emaste järglaste puhul, siis erandiks olid aga need emased tibud, kelle ema oli varasemalt oksüdatiivset stressi kogenud. Selline tulemus toetab põlvkonnaülest segavat mõju poegadele. Samas, vastupidiselt emastele: isastel poegadel, kes kasvasid väiksemas kurnas ja kelle emad olid kontrollid ehk nad ei kogenud oksüdatiivset stressi, kehamass ei suurenenud, kuid nendel, kelle emasid manipuleeriti oksüdatiivse stressiga, suurenes kehamass (Romero-Haro & Alonso-Alvarez 2020). Selliste eksperimentaalsete uuringute teostamine võib aidata paremini selgitada, kas ja milline mõju oksüdatiivse stressi põlvkondadeüleisel kandumisel täpsemalt on.

### 2.3. Uurimisobjekti iseloomustus

Väikealk ehk ürr kuulub alklaste (*Alcidae*) sugukonda kurvitsaliste (*Charadriiformes*) seltsi. Täiskasvanud isendite pikkus on ca 17-21 cm ja kaal 130-200 g. Oodatav eluiga on 8 aastat (Beaman et al. 1998; Norwegian Polar Institute). Väikealkide pesitsusalad on Arktika mitmete saarestike ja saarte kivistel ja kiviklibustel rannikualadel - Baffin, Gröönimaa, Jan Mayen, Svalbard, Franz Joseph'i maa, Novaja ja Severnaja Zemlja (Wojczulanis-Jakubas et al. 2022; Norwegian Polar Institute). Liik on jaotatud kaheks alamliigiks – *Alle alle alle* ja *Alle alle polaris*, kellest viimane pesitseb Franz Joseph'i maal ja esimene ülejäänud pesitsuspaikadel (Norwegian Polar Institute). Ürrid talvituvad üldiselt Põhja-Atlandi madal-arktilises ja boreaalses vööndis, kuigi pole välistatud ka parasvöötmesse sattumist. Pesitsema hakatakse tavaliselt aprillis-mais (Stempniewicz 2001). Pesa tehakse kaljulõhedesse või kui kaljusid pole, siis rahnude vahele (Beaman et al. 1998).

Pesitsusaeg veedetakse koloonias, kus juunikuus munevad emased ühe muna, mida hauvad ja millest koorunud järglase eest hoolitsevad mõlemad vanemad (Wojczulanis-Jakubas et al. 2022). Pojad jäävad pesitsuskolooniasse umbes neljaks nädalaks, mille lõppedes lendavad nad ära merele (Norwegian Polar Institute). Augusti teises pooles ja septembri alguses lahkuvad väikealgid pesitsusalalt ja suunduvad talvitusaladele. Enamus aja aastast veedavad nad avamerel, väljaarvatud eelmainitud pesitusajal (Stempniewicz 2001). Toitu otsivad nad merest, kust püüavad zooplanktonit - peamiseks toidueelistuseks on väikesed vähilaadsed (aerjalalised *Calanus* liigid on

peamine toiduallikas, aga lisaks ka kirpvähilised (*Amphipoda*), krillid (*Euphausiacea*), kalade vastsed ja limused) (BirdLife International 2018; Amélineau et al. 2019). Zooplanktoni eelistamine oma toidulauas on teinud väikealkidest olulise osa Arktika toiduahelate süsteemis ning lisaks rikastavad nad ka kohalikke ökosüsteeme, kandes orgaanilist materjali merelt maale, mis soodustab taimede kasvu ning meelitab ligi ka teisi liike, kes nendest taimedest toituks (Wojczulanis-Jakubas et al. 2022).

Käesolevas töös oli väikealk uuritavaks liigiks mitmel põhjusel. Nimelt on ta Arktika üks arvukamaid liike (eelduste kohalt võib ülemaailmne arvukus olla ca 37-40 miljonit paari (Wojczulanis-Jakubas et al. 2022)) ning seetõttu on teda hea uurida. Nad on ka üsna pika elueaga individid, kellel on väike aastane paljunemisvõime, mistõttu nad ei kohane uute elukeskkonna muutustega kuigi kiiresti, seega saab nende näitel vaadelda merelindude populatsioonide muutusi ja keskkonnamõju elusorganismidele. Ja nagu ka eelmises lõigus mainitud, aitavad väikealgid rikastada oma orgaanikaga elupaiku Arktikas, niisiis on nad seelses piirkonnas olulised ökosüsteemi kujundajana. Seega on väikealk igati sobiv mudelliik.

## 3. Materjal ja meetodid

### 3.1. Materjal

Väikealkide andmed koguti Ida-Gröönimaalt Kap Hoegh'i kolooniast (70°44'N, 21°35'W). Proovid koguti 142 väikealgilt, kellest 92 olid täiskasvanud ja 50 pojad. Lindudelt võeti vereproovid ja mõõdeti poegade kasvunäitajad. Kõik näitajad võeti 2018. ja 2019. aastatel juuli- ja augustikuus – esimesel aastal mõõdeti 62 vanemlindu ja 23 poega ning teisel aastal 30 vanemlindu ja 27 poega. Järglaste kasvumõõdikud – kaal (g), noka-, jooksme- ja tiivapikkused (mm) - mõõdeti Gröönimaal kohapeal iga kahe päeva järel sünnist kuni lennuvõimestumiseni. Samuti fikseeriti nende koorumis- ning mõõtmiskuupäevad. Poegadelt võeti vereproov võimalikult lähedal ajale, mil nad pesast lahkusid (maksimum 28 päeva vanusena, üldiselt 15-25 päeva vanusena) ehk viimasel mõõtmispäeval. Vanemlindudelt võeti vereproovid ca ühe nädala jooksul järglaste koorumise ajal, erandiks oli 2019. aastal kaks vanemlindu, kellelt võeti vereproov 10 päeva peale koorumist. Maksimaalne kogutud vere kogus linnu kohta oli 0,2 ml, poegadelt vähem. Vereproove hoiti külmas -80° C juures. Prantsusmaa La Rochelle'i ning Tartu ülikoolide uurimisrühmade koostööprojekti raames saadeti proovid ja andmed Tartusse, kus analüüsiti neist oksüdatiivse stressi markerid – DNA oksüdatiivsete kahjustuste näitaja 8-hüdroksü-2'-deoksüguanosiin ehk 8-OHdG, antioksidandid kusihape ja glutatioon.

Plasmast analüüsiti 8-OHdG ja kusihape ning punalibledest glutatioon. Magistritöö jaoks kasutati 2018. aasta andmetest kokku 22 poja ja 2019. aasta valimist kokku 26 poja andmeid. Teadaolevaid poegade vanemate andmed: 2018. aastal 11 isaslinnu ja 10 emaslinnu andmed, 2019. aastal kahe emaslinnu andmed, isaseid selle aasta kohta polnud. Eraldi kusihappe ja 8-OHdG vahelise korrelatsiooni analüüsiks kasutati 91 täiskasvanud linnu ja 50 poja andmeid ehk siis sealhulgas ka nende isendite andmeid, kelle puhul sugulust ei olnud teada.

Valimi seas on järglasi, kellel on vähemalt ühelt vanemalt võetud vereproov, aga on ka juhtunud selliseid, kelle vanematelt pole proovi võetud ja ka vastupidi – on vanemlinde, kelle poegade kohta pole andmeid - kas oksüdatiivse stressi markereid või suurusnäitajaid ning mõnel juhul ka mõlemaid (kas ei koorunud või siis lihtsalt ei teata vanemlust). Seega pole käesolevas uurimuses

kogu välitöödel hangitud valimit kasutatud, sest puudulike andmetega invidiidid jäeti analüüsides välja

## 3.2. Metoodika

### 3.2.1. Laborianalüüsid

8-OHdG ehk 8-hüdrosü-2'-deoksüguanosiin on üks peamisi DNA oksüdatsiooniprodukte ning peetakse heaks vabade radikaalide hulga näitajaks (de Souza-Pinto et al. 2001). Glutatioon on tripeptiid, mida leidub organismikudedes ning see käitub antioksidandina ja seob rakkudes tekkivaid reaktiivseid hapnikuühendeid (Forman et al. 2009; Minich & Brown 2019). Kusihape tekib organismis puriinide lagundamise tulemusena ning on samuti võimekas antioksidant (Settle et al. 2012).

Glutatiooni mõõtmiseks kasutati protokoll, mida on kirjeldanud Galván ja Alonso-Alvarez (2008). Punalible proovidele lisati kaaliumfosfaatpuhvit (KPE puhver) 1:10 lahjendusega, seejärel segati 100 µg lahjendatud proovile 100 µg trikloroäädikhappe (TCA) lahust ning saadud segu vorteksiti 15 minuti jooksul kolm korda, vorteksid vahepeal hoiti seda külmkapis. Peale seda tsentrifuugiti lahus 15 minutit 3000 g 4°C juures. Tulemuste saamiseks pandi 20 µg supernatanti mikrotiiterplaadile, lisati rehaga 120 µg Ellmani reagenti (5,5'-ditiobis-(2 nitrobensoehape), ing.k. *5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)*, DTNB)) ja glutatioonreduktaasi (GR) vahekorras 1:1, seejärel 60 µg nikotiinamiidadeniindinukleotiidfosfaati (NADPH) ning 2 minuti jooksul iga 30 sekundi tagant mõõdeti neelduvus lainepikkusel 412 nm ja kalkuleeriti mõõtmistulemused. Vereproovid olid eri kaaluga, aga kuna puhvit lisati peale proovi kaalumist vastavalt proovi kaalule, siis said vereproovide kontsentratsioonid peale lahjendamist võrdseteks.

DNA kahjustuste biomarkerina kasutati 8-OHdG-d, mille kolorimeetriliseks määramiseks vereplasmast rakendati ettevõtte Enzo Life Sciences, Inc. ELISA DNA kahjustuste komplekti. Meetod kasutab antikehi, et tuvastada proovis olev 8-OHdG. Ühe plasmaproovi kogus oli 15 µl. Analüüs viidi läbi vastavalt komplekti tootja lisatud juhendile. Mikrotiiterplaadilt mõõdeti proovide neelduvus lainepikkusel 450 nm ning kalkuleeriti 8-OHdG kontsentratsioonid vastavalt juhendile. Kusihappe kontsentratsiooni mõõdeti väikealkide plasmast Saksamaa meditsiiniseadmete ettevõtte HUMAN Diagnostics Worldwide toodetud *Uric Acid liquicolor*

komplekti abil, mis oli ensümaatiline kolorimeetiline test lipiidide puhastamise faktoriga. Üks proov oli 5 µl. Analüüsi teostamisel järgiti tootja juhendit.

### **3.2.2. Andmeanalüüs**

Väikealkide andmekogum koondati kokku ühtseks Exceli tabeliks. Statistilised analüüsid tehti R 4.1.0 programmis. Jooniste tegemisel kasutati nii Exceli kui R programme. Rakendatud statistiliste mudelite eelduste täitmiseks kontrolliti kõigepealt üle andmete normaaljaotus. Seejärel viidi läbi dispersioonianalüüsid kovariaatidega (ANCOVA) kolmes punktis:

- 1) poegade oksüdatiivse stressi seos poegade suurusega;
- 2) vanemlindude oksüdatiivse stressi seos poegade suurusega;
- 3) vanemlindude oksüdatiivse stressi seos poegade oksüdatiivse stressiga.

Esimeses analüüsis olid sõltuvad pidevad muutujad poegade viimase mõõtmispäeva suurusnäitajad ja sõltumatud pidevad muutujad olid oksüdatiivse stressi indeksid. Teises analüüsis olid sõltuvad pidevad muutujad sarnaselt esimesele analüüsile järglaste viimase mõõtmise suuruste väärtused ja sõltumatud pidevad muutujad olid poegade teadaolevate vanemate oksüdatiivse stressi mõõdikud. Nendes mudelitesse on kovariaatidena kaasatud poegade vanusemuutus (s.t. vanus viimasel mõõtmisel), võtmaks arvesse seda, et mõned pojad mõõdeti vanemana kui teised ning poegade suurusnäidikute algmõõt koorumisel. Kolmandas analüüsis võeti sõltuvateks muutujateks järglaste oksüdatiivse stressi näitajad ning sõltumatuteks muutujateks vastavalt vanemlindude oksüdatiivse stressi parameetrid.

Lisaks võeti statistikaanalüüsidesse lisafaktoritena ka andmete kogumise aasta (2018 või 2019. aasta) ja kuupäev, millal poegadelt vereproov võeti (2018. aastal 5. august ja 2019. aastal 9. august), et võtta arvesse ka erineva ajaperioodi mõju andmetele. Vanemate-poegade vaheliste seoste puhul olid aasta ja proovivõtu kuupäev olemas enamuses ainult ühe, 2018. aasta kohta, kuna teadaolevatest vanematest oli 2019. aastast andmeid ainult kahe emase kohta. Seega on ka järgnevas tulemuste osas jäetud isaslindude puhul need lisafaktorid tabelitest välja. Dispersioonianalüüsides tulemused loeti statistiliselt olulisteks, kui  $p < 0,05$ . R programmis viidi läbi ka korrelatsioonianalüüs kusihaape ja DNA oksüdatiivsete kahjustuste biomarkeri 8-OHdG vahel, kuna esmasel tutvumisel andmete statistika käigus leiti neil olevat seos.

### **3.3. Töö autori roll**

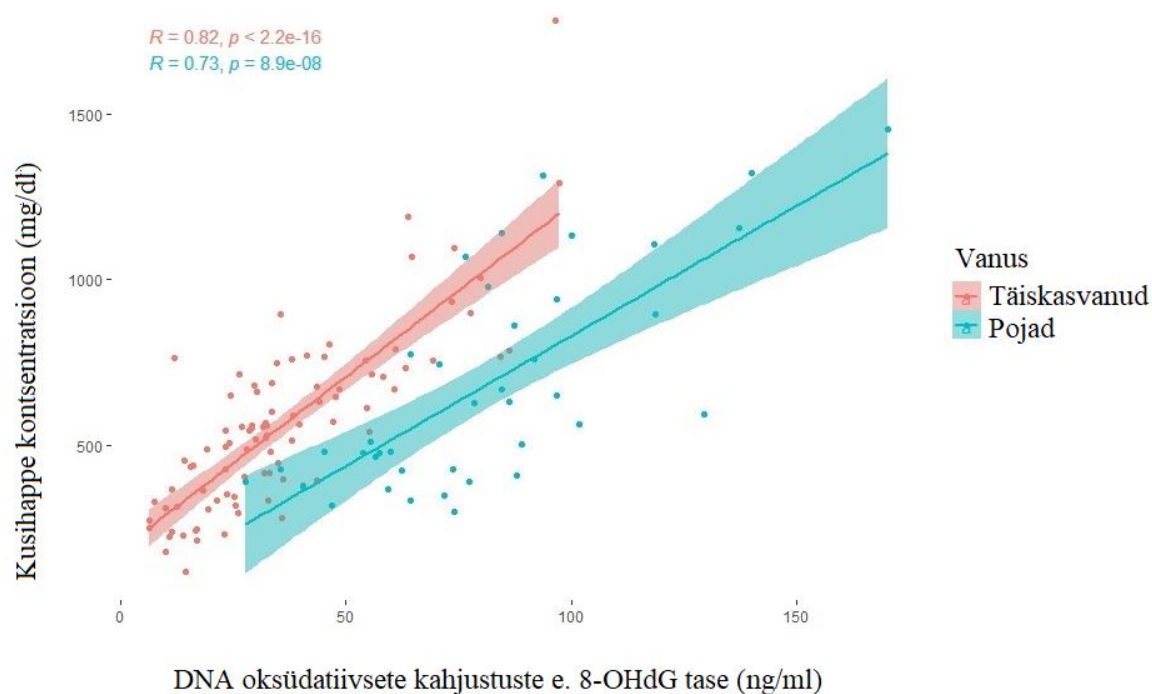
Käesoleva töö autor oli osaline laboratoorsete analüüside teostamisel ja tegi andmeanalüüsi juhendaja nõuannete toel. Väikealkide andmestiku kogus Prantsusmaa La Rochelle`i ja Tartu ülikoolide koostööprojekti raames Phd Jérôme Fort ja Phd Alice Carravieri. Laborianalüüsid viidi läbi koostöös Phd Richard Meiterniga.

## 4. Tulemused

### 4.1. Seos kusihappe ja oksüdatiivsete kahjustuste vahel

Nagu sai eelmises peatükis öeldud, siis antud korrelatiivse analüüsi teostamiseks kasutati 91 täiskasvanu ja 50 poja andmeid. Statistiliste analüüside käigus ilmnis, et nii täiskasvanud isenditel kui poegadel esines positiivne seos nende organismis oleva DNA oksüdatiivseid kahjustusi näitava biomarkeri 8-OHdG ja antioksidandi kusihappe vahel (Pearsoni korrelatsioon täiskasvanutel  $R=0,82$ ,  $p<0,01$ ; poegadel  $R=0,73$ ,  $p<0,01$ , vt. joonis 1).

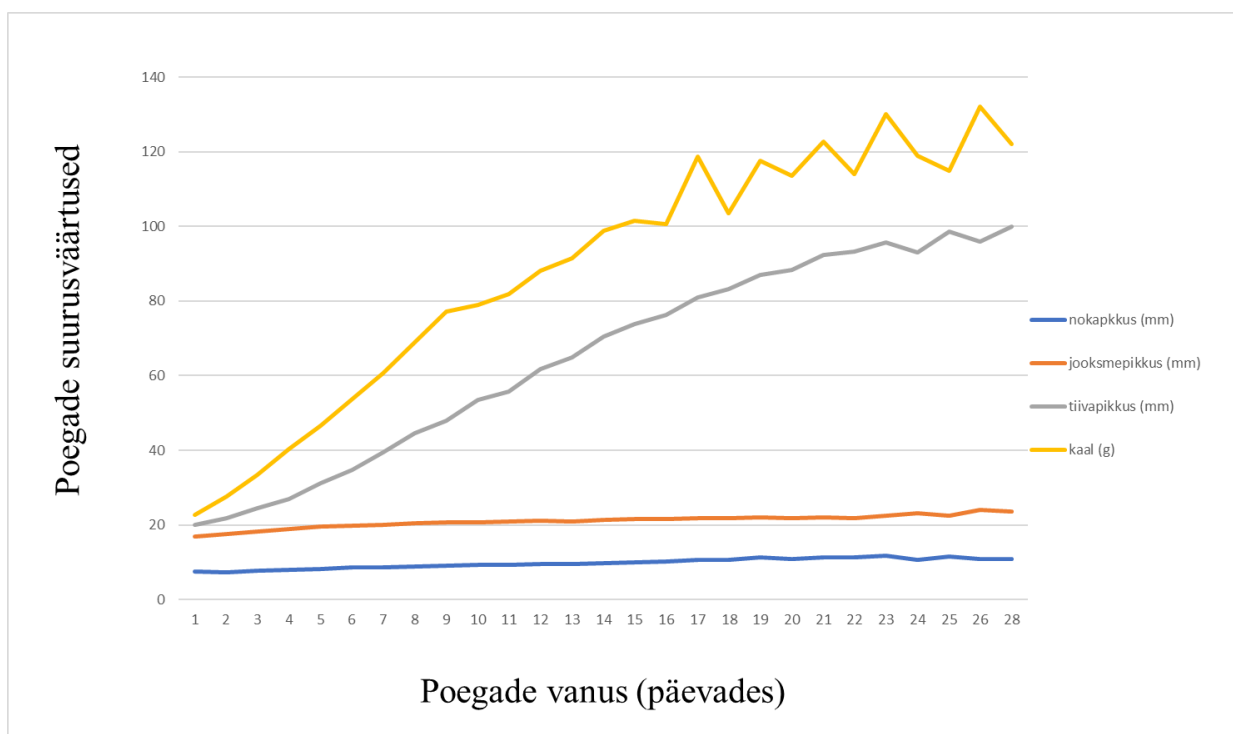
Kuigi DNA kahjustuste ja kusihappe vahelise seose uurimine polnud töö alguperioodil kavas, siis avastati statistika esmasel vaatlemisel antud seos ning otsustati seda täpsemalt edasi uurida. Kerkis üles ka kahtlus, et selline seos võib olla tingitud laborianalüüside käigus tehtud veaga, kuid samas on teaduskirjanduses olemas paar artiklit, mis on leidnud sarnase tulemuse DNA kahjustuste ja kusihappe vahel. Nendest uuringutest tuleb juttu allpool.



**Joonis 1.** Kusihappe ja DNA oksüdatiivsete kahjustuste vaheline seos väikealgi täiskasvanud lindudel ja poegadel.

## 4.2. Poegade oksüdatiivse stressi seos poegade suurusega

Statistiliste analüüside käigus kasutati 48 poja oksüdatiivse stressi näitajate (DNA oksüdatiivsed kahjustused ehk 8-OHdG biomarker, kusihape ja glutatioon) kontsentratsioone, uurimaks nende seost poegade suurusparameetritega (kaal, noka-, jooksmepikkus- ja tiivapikkus). Tulemustest nähtub, et mitte ühegi oksüdatiivse stressi näitaja mõju ei olnud statistiliselt oluline (vt. tabel 1). Teisisõnu, töös kasutatud andmestiku põhjal seost poegade oksüdatiivse stressi ja suuruse vahel ei olnud. Poegade kasvuperioodi visualiseerimise tarbeks on siinkohal lisatud joonis (vt. joonis 2), kus on päevade lõikes näidatud nende keskmiste suuruste muutused.



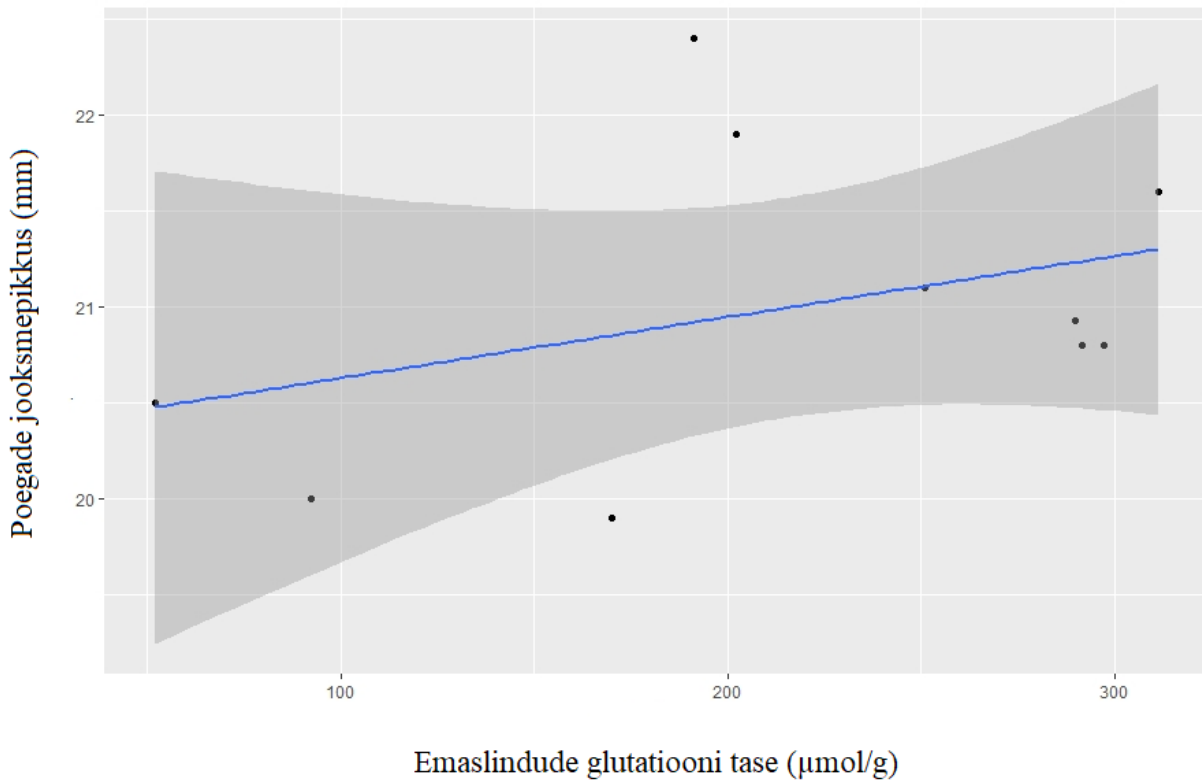
**Joonis 2.** 2018. ja 2019. aastal koorunud poegade suurusparameetrite keskmiste väärtuste muutus päevade lõikes. Välja on jäetud 2018. aasta poegade andmed 9. ja 17. päeva kohta, kuna nende päevade mõõtmistulemused olid vigased.

**Tabel 1.** Kovariatsioonimudelid poegade oksüdatiivse stressi seosest poegade suurusega. Tabelis olevad näitajad mõõdeti 2018.-2019. aastate juulis ja augustis ehk alates poegade koorumisest kuni lennuvõimestumiseni.

Poja oksüdatiivse stressi mõõdik	Poja kaal (g)		Poja nokapikkus (mm)		Poja jooksmepikkus (mm)		Poja tiivapikkus (mm)	
	F <sub>1,33</sub>	P	F <sub>1,33</sub>	P	F <sub>1,33</sub>	P	F <sub>1,33</sub>	P
<b>DNA oksüdatiivsed kahjustused</b>	0,01	0,96	1,23	0,28	0,14	0,71	0,01	0,98
Vanusemuutus	41,13	<0,0001	9,20	0,005	26,25	<0,0001	231,61	<0,0001
Mõõtmise koorumisel	1,17	0,29	0,01	0,94	0,77	0,39	2,02	0,17
Aasta	9,83	0,004	7,06	0,01	0,66	0,42	1,42	0,24
Proovivõtu kuupäev	0,09	0,76	7,06	0,01	2,31	0,14	0,33	0,57
<b>Kusihape</b>	F <sub>1,33</sub> 1,25	P 0,27	F <sub>1,33</sub> 0,98	P 0,33	F <sub>1,33</sub> 0,01	P 0,96	F <sub>1,33</sub> 0,22	P 0,64
Vanusemuutus	42,69	<0,0001	9,13	0,005	26,14	<0,0001	233,16	<0,0001
Mõõtmise koorumisel	1,21	0,28	0,01	0,95	0,77	0,39	2,03	0,16
Aasta	10,21	0,003	7,01	0,01	0,65	0,43	1,43	0,24
Proovivõtu kuupäev	0,10	0,76	7,01	0,01	2,30	0,14	0,34	0,57
<b>Glutatioon</b>	F <sub>1,40</sub> 0,01	P 0,93	F <sub>1,39</sub> 0,83	P 0,37	F <sub>1,40</sub> 2,11	P 0,15	F <sub>1,40</sub> 1,05	P 0,31
Vanusemuutus	42,78	<0,0001	18,44	0,0001	28,97	<0,0001	323,87	<0,0001
Mõõtmise koorumisel	0,37	0,55	0,10	0,75	0,78	0,38	2,16	0,15
Aasta	11,30	0,002	3,40	0,07	0,12	0,73	0,27	0,61
Proovivõtu kuupäev	0,10	0,76	3,40	0,07	1,49	0,23	0,25	0,62

### 4.3. Vanemlindude oksüdatiivse stressi seos poegade suurusega

Nendes analüüsid vaadeldi vanemlindude oksüdatiivse stressi seost poegade suurusnäitajatega. Mudelites kasutati 11 isaslindu, 12 emaslindu ning nende järglaste andmeid. Emaslindude puhul ilmnas, et nende DNA oksüdatiivsed kahjustuste (8-OHdG biomarker) tasemel ei ole seost poegade suurusmõõdikutega. Emaste kusihaape koguste puhul ei täheldatud samuti olulist mõju nende järglastele. Glutatiooni mõju analüüsid selgus, et ainult poegade jooksmepikkusega on emaslindude glutatiooni tasemel statistiliselt oluline positiivne seos ( $F_{1,5}=8,97$ ;  $p=0,03$ , vt. joonis. 3). Seega enamikul analüüsidel ei täheldatud oksüdatiivse stressiseisundi ja kehasuuruse omavahelist seost.

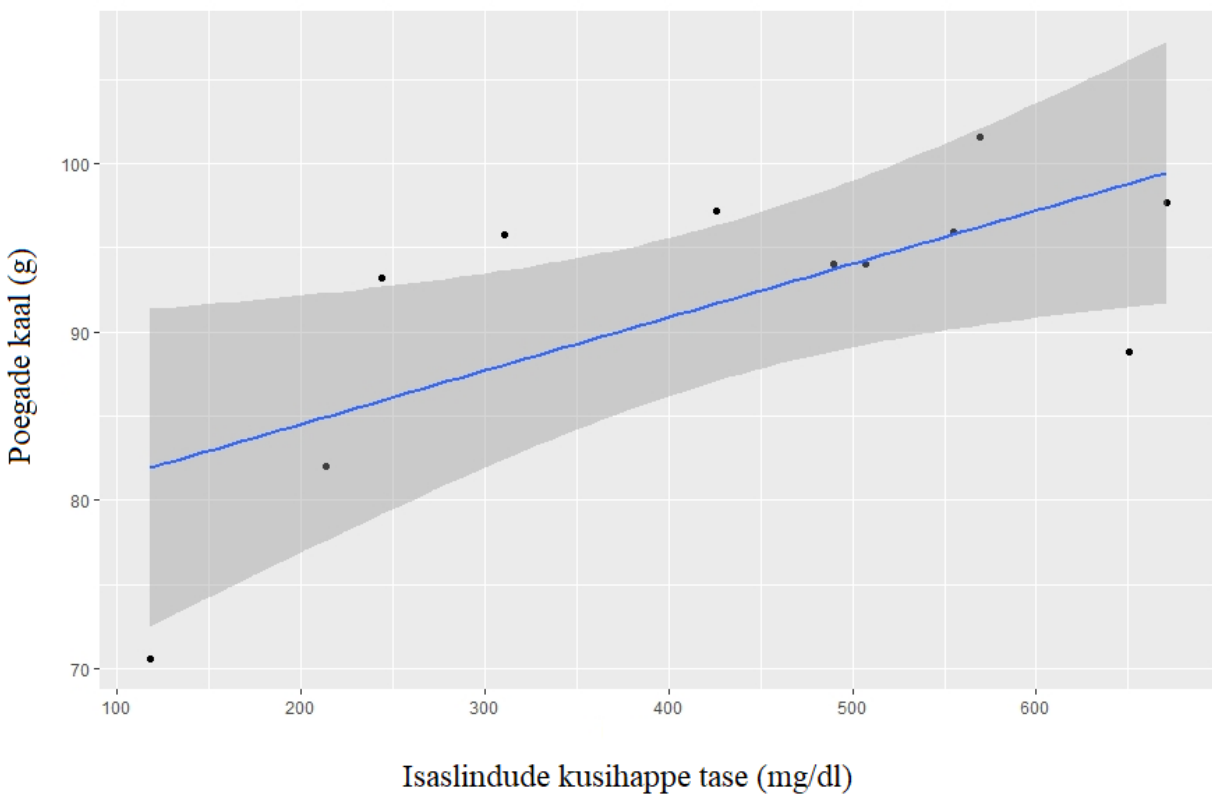


**Joonis 3.** Emaslindude glutatiooni taseme ja poegade jooksmepikkuse seos.

**Tabel 2.** Kovariatsioonimudelid ema oksüdatiivse stressi seosest poegade suurusega. Tabelis olevad näitajad mõõdeti 2018.-2019. aastate juulis ja augustis ehk alates poegade koorumisest kuni lennuvõimestumiseni.

Ema oksüdatiivse stressi mõõdik	Poja kaal (g)		Poja nokapikkus (mm)		Poja jooksmepikkus (mm)		Poja tiivapikkus (mm)	
	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P
<b>DNA oksüdatiivsed kahjustused</b>	1,52	0,26	0,22	0,66	0,08	0,79	0,04	0,86
Vanuse muutus	19,02	0,005	14,25	0,009	0,71	0,43	22,40	0,003
Mõõtmise koorumisel	0,26	0,63	8,14	0,029	1,39	0,28	0,0001	0,99
Aasta	1,17	0,32	2,43	0,17	1,64	0,25	0,19	0,68
Proovivõtu kuupäev	1,17	0,32	2,43	0,17	1,64	0,25	0,19	0,68
<b>Kusihape</b>	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P
Vanuse muutus	2,48	0,17	0,40	0,55	0,17	0,69	0,42	0,54
Vanuse muutus	21,46	0,004	14,65	0,009	0,72	0,43	23,81	0,003
Mõõtmise koorumisel	0,29	0,61	8,37	0,028	1,41	0,28	0,0001	0,99
Aasta	1,32	0,29	2,50	0,17	1,67	0,24	0,20	0,67
Proovivõtu kuupäev	1,32	0,29	2,50	0,17	1,67	0,24	0,20	0,67
<b>Glutatioon</b>	F <sub>1,5</sub>	P	F <sub>1,5</sub>	P	F <sub>1,5</sub>	P	F <sub>1,5</sub>	P
Vanuse muutus	0,15	0,71	4,85	0,08	9,00	<b>0,03</b>	0,43	0,54
Vanuse muutus	15,94	0,01	28,40	0,003	1,79	0,24	52,48	0,001
Mõõtmise koorumisel	0,72	0,44	15,27	0,011	6,17	0,056	0,15	0,72
Aasta	1,82	0,24	2,95	0,15	1,17	0,33	0,64	0,46
Proovivõtu kuupäev	1,82	0,24	2,95	0,15	1,17	0,33	0,64	0,46

Isaslindudega sooritatud analüüsides selgus, et DNA oksüdatiivsetel kahjustustel ei olnud statistiliselt olulist seost mitte ühelegi järglaste suurusnäitajatele. Isaste kusihaape tasemel oli oluline positiivne seos ainult poegade kaalule ( $F_{1,7}=8,78$ ;  $p=0,02$ , vt. joonis. 4). Tulemused isaste glutatioonitasemete ja kõikide poegade kasvumõõdikute vahel osutusid mitteolulisteks. Seega, ka siin, nagu emade puhulgi, ei leitud töös kasutatud valimis enamikul mõõdikutel seoseid.



**Joonis 4.** Isaslindude kusihaape taseme ja poegade kaalu vaheline seos.

**Tabel 3.** Kovariatsioonimudelid isa oksüdatiivse stressi seosest poegade suurusega. Tabelis olevad näitajad mõõdeti 2018.-2019. aastate juulis ja augustis ehk alates poegade koorumisest kuni lennuvõimestumiseni. Eelnevates tabelites olnud lisafaktorid “aasta” ja “proovivõtu kuupäev” eemaldati, kuna need ei andnud mudelis väljundeid.

Isa oksüdatiivse stressi mõõdik	Poja kaal (g)		Poja nokapikkus (mm)		Poja jooksmepikkus (mm)		Poja tiivapikkus (mm)	
	F <sub>1,7</sub>	P	F <sub>1,7</sub>	P	F <sub>1,7</sub>	P	F <sub>1,7</sub>	P
<b>DNA</b>	1,33	0,29	0,001	0,98	1,19	0,31	0,29	0,61
<b>oksüdatiivsed kahjustused</b>								
Vanuse muutus	3,76	0,09	6,18	0,04	4,39	0,07	18,92	0,003
Mõõtmise koorumisel	0,29	0,61	2,42	0,16	0,44	0,53	0,03	0,86
<b>Kusihape</b>	F <sub>1,7</sub>	P	F <sub>1,7</sub>	P	F <sub>1,7</sub>	P	F <sub>1,7</sub>	P
	8,78	<b>0,02</b>	0,02	0,89	0,14	0,72	0,01	0,95
Vanuse muutus	7,11	0,03	6,20	0,042	3,83	0,09	18,19	0,004
Mõõtmise koorumisel	0,55	0,48	2,42	0,16	0,38	0,56	0,03	0,86
<b>Glutatioon</b>	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P
	0,002	0,96	2,01	0,21	0,19	0,68	2,99	0,14
Vanuse muutus	10,74	0,017	7,39	0,035	3,35	0,12	22,91	0,003
Mõõtmise koorumisel	0,61	0,46	2,45	0,17	0,30	0,60	0,03	0,87

#### 4.4. Vanemlindude oksüdatiivse stressi seos poegade oksüdatiivse stressiga

Selles osas analüüsiti, kas vanemlindude oksüdatiivse stressi mõõdikutel on seos nende järglaste oksüdatiivse stressi näitajate tasemele. Kuna kõikidel poegadel, kellelt vereproove võeti, ei ole seda vanematelt võetud, siis sai seda analüüsi samuti teha vaid 12 emaslinnu ja 11 isaslinnu ning nende järglastega. Tulemustest selgus, et vanemate DNA oksüdatiivsed kahjustused, kusihaape ja glutatiooni kontsentratsioonidel ei olnud olulist seost poegade oksüdatiivse stressi näitajatele.

**Tabel 4.** Kovariatsioonimudelid vanemlindude oksüdatiivse stressi parameetrite seosest poegade oksüdatiivse stressi näitajatele. Tabelis olevad näitajad mõõdeti 2018.-2019. aastate juulis ja augustis ehk alates poegade koorumisest kuni lennuvõimestumiseni. Eelnevates tabelites olnud lisafaktorid “aasta” ja “proovivõtu kuupäev” eemaldati isaslindude osas, kuna need ei andnud mudelis väljundeid.

Vanemlinnu oksüdatiivse stressi mõõdik	Vanemlinnu sugu	Poja DNA oksüdatiivsed kahjustused		Poja glutatioon		Poja kusihaape	
		F <sub>1,6</sub>	P	F <sub>1,8</sub>	P	F <sub>1,6</sub>	P
<b>DNA oks. kahjustused</b>	<b>Ema</b>	0,18	0,69	0,06	0,82	1,66	0,25
	Aasta	0,28	0,62	1,21	0,30	0,09	0,78
	Proovivõtu kuupäev	0,28	0,62	1,21	0,30	0,09	0,78
<b>DNA oks. kahjustused</b>	<b>Isa</b>	1,11	0,32	0,50	0,50	1,01	0,35
	<b>Ema</b>	0,11	0,75	0,26	0,62	0,01	0,94
	Aasta	0,27	0,62	1,24	0,30	0,07	0,80
<b>Kusihaape</b>	<b>Isa</b>	0,61	0,46	0,01	0,94	0,24	0,64
	Aasta	0,27	0,62	1,24	0,30	0,07	0,80
	Proovivõtu kuupäev	0,27	0,62	1,24	0,30	0,07	0,80

<b>Glutatioon</b>	<b>Ema</b>	<b>F<sub>1,5</sub></b> 0,40	<b>P</b> 0,55	<b>F<sub>1,7</sub></b> 0,86	<b>P</b> 0,39	<b>F<sub>1,5</sub></b> 0,02	<b>P</b> 0,90
Aasta		0,01	0,91	1,06	0,34	0,01	0,93
Proovivõtu kuupäev		0,01	0,91	1,06	0,34	0,01	0,93
<b>Glutatioon</b>	<b>Isa</b>	<b>F<sub>1,7</sub></b> 0,13	<b>P</b> 0,73	<b>F<sub>1,8</sub></b> 0,71	<b>P</b> 0,42	<b>F<sub>1,7</sub></b> 1,44	<b>P</b> 0,27

---

## 5. Arutelu

### 5.1. Seos kusihappe ja oksüdatiivsete kahjustuste vahel

Töö jaoks vajalike statistiliste analüüside teostamise käigus märgati üht huvitavat seost, mida küll polnud algselt kavas uurida. Nimelt nii täiskasvanud väikealkidel kui ka järglastel esines positiivne seos nende organismis oleva DNA oksüdatiivseid kahjustusi näitava biomarkeri 8-OHdG ja kusihappe tasemete vahel, mis kõige tõenäolisemalt tuleneb bioloogiast ja mitte metodoloogilisest veast. Lindude jaoks on kusihape üks olulisemaid viise kaitsmaks organismi oksüdatiivsete kahjustuste eest ning mitmed varasemad uuringud on näidanud korrelatsiooni plasmas suurenenud kusihappe koguse ja kahanenud oksüdatiivse stressi taseme vahel (Settle et al. 2012). Kuigi käesolevas töös leitud korrelatsioon on hoopis positiivne, siis on sarnast seost täheldatud vähemalt ühes teaduslikus artiklis - seda küll inimeste puhul, täpsemalt diabeedihaigetel (Stein et al. 2018). Lisaks on ka maksa hepatotsüütides leitud samalaadne korrelatsioon DNA oksüdatiivsete kahjustuste ja kusihappe tasemete vahel, mida järeldati küll antud uuringus selliselt, et kusihape kontsentratsiooni tase soodustada DNA kahjustusi rakkudes (Yang et al. 2016). Kanaembrüode südamelihasarakkudel läbiviidud uuringus selgus, et kuigi kusihape normaalses vahemikus (100–900  $\mu\text{M}$ ) on kasulik, siis suuremas koguses (1200  $\mu\text{M}$ ) võib see põhjustada oksüdatiivsete kahjustuste hulga suurenemist (Sun et al. 2017). Ka Kang & Ha 2014. aasta ülevaateartiklis on arvatud, et kusihape võib käituda nii antioksidandi kui oksüdandina ehk teisisõnu mingitel tingimustel takistada oksüdatiivsete kahjustuste tekkimist ja teistes oludes hoopis soodustada oksüdatiivse stressi teket. Samas, kui imetajatele on kõrge kusihappe tase kahjulik, põhjustades podagrat, siis lindudele pole selle taseme suurendamine niivõrd kulukas, kuna kusihape seostub nende neerudes proteiiniga, tehes seeläbi kusihappe lahustuvaks ühendiks (Simoyi et al. 2002). Seega võiksid kõrgema oksüdatiivsete kahjustustega väikealgid hoida oma organismis ka kõrgemat kusihappe hulka, kompenseerimaks oksüdatiivse stressi suuremat taset.

Samas võib selline seos olla põhjustatud ka mingist muust mõjust. Kusihape tekib puriinide metabolismi käigus. Lindudel on kõrgem ainevahetuskiirus, kui näiteks imetajatel, mis peaks teoreetiliselt tähendama ka suuremaid oksüdatiivseid kahjustusi, kuid samas vananevad linnud aeglasemalt, s.t. nende rakkudes ei kuhju niivõrd kiiresti oksüdatiivseid kahjustusi, seega neil peaks olema väga tõhus meetod, kuidas end vabade radikaalide eest kaitsta. Selleks mehhanismiks

on pakutudki just kusihapet, mille kõrgemaid tasemeid suudavad linnud ka taluda. Lindudel puudub ka ensüüm uraatoksüdaas, mille tulemusel tekib kusihapest allantoiin ning teaduskirjanduses on üles kerkinud arvamus, et selle ensüümi puudumine võib samuti lindudel kusihappe kogust tõsta (Settle et al. 2012). Võib arvata, et kuna kusihape on osa lindude ainevahetusest, siis võib olla on antud seos kusihappe ja oksüdatiivsete kahjustuste vahel hoopis mingisuguse muu tunnuse – näiteks kiirema ainevahetuse - ühine mõju. Kokkuvõttes näitab antud uurimistöös saadud seos kusihappe ja DNA oksüdatiivsete kahjustuste mõõdiku vahel, et kusihape antioksidandina võib väikealkide jaoks tähendada tõhusat ja tähtsat tõrjemehhanismi oksüdatiivse stressi vähendamisel.

## **5.2. Oksüdatiivse stressi markerid ja poja kasv**

Esimene töö sissejuhatuses sätestatud uurimispunkt käsitles küsimust, kas poegade organismis tekkinud oksüdatiivne stress ja nende kehasuurus võiks olla omavahel seotud. Statistiliste analüüside tulemusena selgus, et poegade oksüdatiivse stressi mõõdikute tasemetel ei olnud olulist seost mitte ühelegi poegade kasvunäidikutele (kaal, noka-, jooksmee- ja tiivapikkus). Varasemate uuringute raames on leitud, et järglaste kiire kasv võib lõivsuhtena suurendada nende oksüdatiivset stressi, nt lõuna-hõbekajaka (*Larus michahellis*) puhul, kus poegade kahanenud vastupanu oksüdatiivsele stressile korreleerus nende kiirema kasvuga (Kim et al. 2011). Musttihastel (*Periparus ater*) täheldati, et kõrgemal kasvanud järglased sirgusid suureks kiiremini, kui madalamal kasvanud, kuid samas kiirem kasv tähendas ka suuremat DNA oksüdatiivsete kahjustuste hulka (Stier et al. 2014). Kuningpingviinide (*Aptenodytes patagonicus*) poegade puhul väiksemad isendid, kes kasvasid kiiremini, tegid seda organismi heaolu arvelt – neil oli ka kõrgem oksüdatiivse stressi tase (Geiger et al. 2011). Kõrge oksüdatiivne stress võib aga hakata kasvu pärssima (Taniguchi et al. 1999; Eid et al. 2003; Injaian et al. 2018). Seega võib järeldada, et kui oksüdatiivse stressi tase polnud liiga kõrge, siis see poegade kasvu ei aeglustanud ning seost antud töö valimi kontekstis ei ole.

Teine uurimisküsimus oli, kas väikealkide vanemate oksüdatiivse stressi tase seostub nende poegade suurusega. Andmeanalüüside tulemusena nähtus, et isaslindude organismis olnud kusihape tasemel ja nende poegade kaalu vahel oli positiivne seos ehk kõrgema kusihappe tasemega isaste järglased olid suuremad. Nagu sai sissejuhatavas peatükis öeldud, võib

oksüdatiivsest stressist põhjustatud kahjustused kas mutatsioonide või epigeneetiliste mehhanismide vahendusel kanduda üle järglastele (Metcalf & Alonso-Alvarez 2010). Isastel saab see toimuda seemnerakkude ja ka -vedeliku (mis sisaldab järglaste arengut mõjutavaid proteiine, lipiide, hormone, nt testosterooni ja antioksüdantseid ensüüme) kaudu (Crean & Bonduriansky 2014; Santiago-Moreno & Blesbois 2020). Lisaks koosnevad seemnerakkude plasmamembraanid polüküllastumata rasvadest, mis on vastuvõtlikud oksüdatiivsetele kahjustustele (Vitikainen et al. 2016). Kuna eelpool leiti positiivne seos kusihaape ja DNA kahjustuste vahel, siis võib arvata, et suurema kusihaape kogusega isastel esines oksüdatiivne stress, mille tagajärjel võis ka rohkem kusihaape sattuda lootesse, mis võis kaasa aidata poegade kasvule.

Saadud seos isade ja poegade vahel võib näidata ka vanema panust oma järglastesse, mis tõstab tema kohasust, kuid võib ka viidata aktiivsemast vanemahoolest tulenevale hinnale. Kuldnoka (*Sturnus vulgaris*) näitel on leitud, et vanematel, kes kasvasid oma järglasi, oli kõrgemad kusihaape tasemed (Fowler et al. 2018). Seega võiks ka arutleda, et nendel väikealkide isastel, kes tegelesid intensiivsemalt oma poegade kasvatamisega, oli ka kõrgemad kusihaape kontsentratsioonid ja nende pojad kasvasid rutem. Sel juhul võiks kõrge kusihaape tase näidata isaslindude kvaliteeti. Varasemalt on näidatud paari uuringu näitel, et vanematel, kes investeerisid oma järglastesse rohkem, olid suuremad oksüdatiivse stressi tasemed (Williams 2018). Kõrgema oksüdatiivse stressi tasemega indiviididel võib kehas hakata rohkem oksüdatiivseid kahjustusi tekkima, mis viib rakkude kiirema vananemiseni (Alonso-Alvarez & Velando 2012), seega võis kõrgem kusihaape tase olla ka väikealgi isaste sigimise hinna näitaja. Sigimise hind tähendab, et kui vanem investeerib oma praegustesse järglastesse rohkem, siis teeb ta seda oma ellujäämise ja tulevikus võimalike järglaste arvelt (Harshman & Zera 2007). Kõrgema kusihaape tasemega (korvamaks kõrgemat oksüdatiivset stressi) isaslinnud võisid enda heaolu arvelt hoolitseda oma poegade eest rohkem, kes siis ka kasvasid suureks kiiremini ja said ehk suurema eelise edasiseks eluspüsimiseks.

Emaslindude puhul viidi läbi samad analüüsid, mis üle-eelmises lõigus isadel. Ainult üks tulemus osutus statistiliselt oluliseks - emaste glutatiooni tase oli positiivses seoses poegade jooksmepikkusega. Teisisõnu, antud töö kontekstis oli kõrgema glutatiooni tasemega emaste poegadel pikem jookse. Emade puhul saab sellist seost seletada sarnaselt eelpool isaslindudel kirjeldatuga - ema geno- või fenotüüp mõjutab mingit moodi tema järglase fenotüüpi. See võib

samuti olla nii geneetiline aga ka mittegeneetiline, mis tähendab, et järglase fenotüüpi võib kaudselt mõjutada lisaks keskkond, kus tema ema elab (Wolf & Wade 2009). Mittegeneetilised faktorid on näiteks hormoonid, antikehad ja erinevad toitained (Hasselquist & Nilsson 2009). Siinkohal saab analoogselt isastele järeldada, et kõrgema glutatioonitasemega emade organismis võis vabade radikaalide hulga tõttu munasse jõuda suurem kogus glutatiooni molekule, mis mõjutas poegade jooksme pikenemist.

Kõrgemad antioksidantide tasemed ei pea aga tingimata tähendama, et isend kogenuks oksüdatiivset stressi. Kusihappe suurenenud tase võib olla põhjustatud ka puriine sisaldavatest kindlatest toiduvalikutest, mille lagundamise tagajärjel tekibki organismis kusihape. Muuhulgas leidub puriine ka mereandides (Hou et al. 2021). Teaduskirjanduses on ka mainitud, et glutatiooni taset võivad mõned toiduained mõjutada, nt oomega-3-rasvhappeid sisaldavad kalad (Minich & Brown 2019). Kuigi peamiselt toituvad väikealgid zooplanktonist, siis nad on üsna oportunistlikud ja võivad vajadusel süüa ka väiksemaid kalu, mereusse ja limuseid (Stempniewicz 2001). Seega võis juhtuda, et vanemlindude antioksidantide hulk ei olnud mitte otseselt põhjustatud oksüdatiivsest stressist, vaid hoopis toidulaua võimalustest. Kuna antud uuringus oli vanemate ja järglaste valim päris väike, siis saadud tulemused ei kinnita, et sarnased seosed ka päriselt looduses väikealkidel esinevad, seega oleks edasiselt tarvis läbi viia uuringuid suurema andmestikuga. Siiski annavad käesoleva uuringu tulemused pilootinformatsiooni võimalike tunnuste kohta, mis võivad vanemate ja järglaste tervist omavahel siduda.

### **5.3. Vanemlindude oksüdatiivse stressi markerite seos poegade oksüdatiivse stressi markeritega**

Kolmandas huvipakkuvast osast taheti teada, kas vanemate oksüdatiivse stressi näidikud seostuvad nende poegade oksüdatiivse stressi mõõdikutega. Selgus, et mitte ükski vanemate oksüdatiivse stressi näitajal ei olnud statistiliselt olulist seost poegade oksüdatiivse stressi väärtustega. Üheks seletuseks võib olla, et need kaks tunnust polegi omavahel seotud – keskkonna või individuaalsete eripärade mõju poja oksüdatiivse stressi markeritele on suurem kui võimalik vanema mõju. Teaduskirjanduses on välja pakutud ka alternatiivne hüpotees, mis selgitab võimaliku mõju puudumist – nn. *oxidative shielding hypothesis* (oksüdatiivse kaitse hüpotees) -, mis arutleb, et

emastel võib paljunemisperioodil ennetavalt oksüdatiivse stressi tase langeda antioksidantide suurenenud aktiivsuse tõttu, kaitsmaks nende järglasi vältimatu oksüdatiivse stressi tõusu eest, mis paljunemise kui energeetiliselt kuluka protsessi tagajärjel muidu tekiks (Blount et al. 2016). Elukäiguteooria üheks keskseks teesiks on see, et paljunemispingutus on elusolenditele kulukas, kuna kasutatavad keskkonna- ja organismisisesed ressursid on piiratud ning seepärast võib mingil konkreetsel ajahetkel sigimine toimuda isendi tulevase ellujäämise ja sigimise arvelt (Harshman & Zera 2007). Kuna vabad radikaalid, mis põhjustavad oksüdatiivset stressi, tekivad ainevahetusprotsesside käigus ja sigimine, nagu juba eelnevalt mainitud, on energeetiliselt kulukas tegevus, mis kiirendab ainevahetust, siis sellest tulenevalt on varasemalt teadlaste poolt esitatud hüpotees, et paljunemisprotsess võib tõsta indiviidi oksüdatiivse stressi taset (Alonso-Alvarez et al. 2004). Blount et al. 2016 ülevaateartikli järgi on leitud tõendeid, et mõnedes biomarkerites ja organismi kudedes on täheldatud oksüdatiivsete kahjustuste taseme langust enne paljunemisperioodi. Vitikainen et al. 2016 näitasid muuhulgas, et tiinetel vöödilistel mangustidel (*Mungos mungo*) kahanes oksüdatiivse stressi biomarkeri malondialdehüüdi hulk plasmas, mis võiks viidata, et ülalmainitud oksüdatiivse kaitse hüpotees võib vastata tõele. Samas ei leidnud autorid, et antioksidantide tase oleks tiinetel isenditel suurenenud ja seetõttu jäid oksüdatiivse stressi kaitsemehhanismid siiski veel ebaselgeks. Viblanc et al. 2018 uuringus emade oksüdatiivse stressi ja sigimise seosest Columbia maaoravate (*Urocitellus columbianus*) näitel ilmnes, et siginud emastel vähenesid oksüdatiivse stressi tasemed järglaste imetamisel, aga mittesiginud emaste stressitasemed samal ajaperioodil oluliselt ei muutunud. Samas, ennesünniaegset ehk tiinusajal stressitaseme langust emastel ei täheldatud ja imetamisajal esinenud oksüdatiivse stressi tasemetel ei leitud olevat seost poegade füüsilises arengus. Meniri et al. 2022 jällegi vöödilisi manguste käsitletud artiklist ilmnes, et tiinete mangustide plasma proteiinkarbonüülide (oksidatiivsete kahjustuste biomarker) tasemed olid väiksemad, võrreldes nende emastega, kes ei siginud. Seega nähtub, et oksüdatiivse kaitse hüpoteesi paikapidavuse kohta on leitud mõningaid tõendeid, aga siiski on selles teemas veel ebaselgust.

Eelnevalt sai mainitud, et vanemad saavad erinevate meetoditega mõjutada oma järglaste fenotüüpi. Lindudel on muna esmane keskkond, milles loode areneb sügoodist kuni koorumiseni. Kuna ema suunab lootearenguks oma organismist vajalikke aineid munasse, siis see tähendab, et ema tervislik seisund võib tema järglaste heaolu tugevalt mõjutada, sealhulgas ka kahjulikult vabade radikaalide tõttu tekkinud oksüdatiivsete kahjustuste toimel. Ema oksüdatiivse stressi

tagajärjed võivad ammendada lipiide, proteiine ja erinevaid antioksüdante, mis on olulised komponendid munas munavalge ja rebu sünteesiks (Blount et al. 2016). Seega oleks oksüdatiivse stressi taseme kahandamine enne paljunemisprotsessi tähtis mehhanism oma järglastele suurema ellujäämistõenäosuse kindlustamiseks. Siiski, antud töö kontekstis on see vaid arutelupunkt ja mitte kinnitatud hüpotees, seega saab seda teemat edasiselt uurida väikealkide andmestikuga, mis hõlmab mitut järjestikust pesitsusaastat. Lisaks peab siinkohal samuti meeles pidama, et antud töös kasutatud andmehulk vanemlindude ja nende järglaste kohta oli väike, seega võis seose puudumine olla põhjustatud hoopis ebapiisavast valimist.

## Kokkuvõte

Oksüdante ehk vabu radikaale toodetakse organismisiseselt ainevahetusprotsesside kaudu ning need on väikeses koguses kasulikud. Kui vabu radikaale tekib liiga palju, siis on tegemist oksüdatiivse stressiga - seisund, kus organismis tekib liiga palju oksüdante ning keha kaitsvad antioksidandid ei suuda oksüdante enam neutraliseerida. Oksüdatiivne stress võib kahjustada organismi biomolekule ning kurnata isendit, seeläbi vähendades tema ellujäämist ja sigimisedukust (Costantini 2008). Oksüdatiivsest stressist põhjustatud kahjustused võivad DNA mutatsioonide või epigeneetiliste meetodite kaudu järglasele kanduda ja mõjutada ka tema fenotüüpi (Metcalf & Alonso-Alvarez 2010; Haro & Alonso-Alvarez 2020). Eelnevad uuringud on viidanud oksüdatiivse stressi mõju põlvkondadeülelele kandumisele (Bixe et al 2008; Vitikainen et al. 2016; Romero-Haro et al. 2022 jt.). Oksüdatiivse stressi mõjusid ja tagajärgi on tarvis uurida populatsiooniökoloogia raames. Väikealk (*Alle alle*) on Arktikas elav merelind, kes on heaks mudelliigiks, kuna on väga arvukas ja väikese aastase paljunemisvõimega. Käesoleva töö eesmärk oli uurida, kas väikealgi vanemlindude oksüdatiivse stressi tasemel on seos nende poegade kehasuuruse ja oksüdatiivse stressiseisundiga.

Töös käsitletud poegade biokeemilistest näitajatest enamik ei olnud statistiliselt olulises seoses vanemate oksüdatiivse stressitasemetega. Oluline seos leiti vaid isaste kusihape taseme ja poegade kaalu vahel, mis võib olla sugulise hinna näitaja. Lisaks seostati ka emaste glutatiooni kogust poegade jooksmepikkusega. Võimalik on ka, et valitud antioksidantide tase vanemate organismis võis sõltuda toidust. Ka ei olnud seost poegade suurusmõõdikute ja biokeemiliste markerite vahel. Huvitava tulemina avastati seos kusihape taseme ja DNA oksüdatiivsete kahjustuste vahel, mis võib väikealkidel viidata kusihapele kui tähtsale kaitsemehhanismile. Samas võis selline seos olla ka põhjustatud hoopis kolmandast faktorist – lindudele omasest kiiremast ainevahetusest. Käesolevas uuringus saadud tulemused võivad anda aimu antioksidantide mõjust väikealkide poegadele, kuid kuna töös kasutatud andmekogum oli üpris väike, siis peaks antud küsimust uurima edaspidi suurema valimi abil.

## Summary

Oxidants also known as free radicals are produced internally by metabolic processes and are useful in small amounts. However, when too many free radicals are produced, a condition called oxidative stress occurs - a state in which the body produces too many oxidants and the body's antioxidants are no longer able to neutralize the oxidants effectively. Oxidative stress can damage the body's biomolecules and be detrimental to individuals body condition, thereby reducing its survival and reproductive success (Costantini 2008). Damage caused by oxidative stress can be transmitted to the offspring through DNA mutations or epigenetic methods which affects its phenotype (Metcalf & Alonso-Alvarez 2010; Haro & Alonso-Alvarez 2020). Previous studies have suggested that oxidative stress can be carried through transgenerational transmission to offspring (Bixie et al. 2008; Vitikainen et al. 2016; Romero-Haro et al. 2022 et al.). The effects and consequences of oxidative stress need to be studied in the context of population ecology. Little auk (*Alle alle*) is a seabird living in the Arctic, which is a good model species because it is very numerous and has a low annual reproductive capacity. The aim of this study was to investigate whether the level of oxidative stress in little auk parents is related to body size and oxidative stress of their chicks.

In this study, most of the measured biochemical parameters of the chicks were not significantly related to parental oxidative stress levels. A significant positive relationship was found only between fathers' uric acid levels and chick weight, which may be an indicator of the cost of reproduction in the fathers. In addition, the amount of glutathione in the mothers was positively related with chick tarsus length. It is also possible that the level of selected antioxidants in the parents' body may have been dependent on food choices. There was also no association between chick size measurements and their biochemical markers. Interestingly, a positive relationship was found between uric acid levels and DNA oxidative damage, that may suggest uric acid being an important defense mechanism in little auks. However, this relationship may have been caused by a third factor - faster metabolism rate of birds. Overall, the results obtained in this study may give an idea of the effect of antioxidants on the offspring of little auks, but as the dataset used in the paper was rather small, means that this question should be investigated with a larger sample size in the future.

# Tänuavaldused

Soovin tänada juhendajat Tuul Seppa abi ja nõu eest. Suur tänu ka Jérôme Fort'ile ja Alice Carravieri'le La Rochelle'i ülikoolist väikealkide andmete kogumise ning koostöö eest ning Richard Meiternile laborianalüüside juhendamise eest. Suur aitäh ka loomaökoloogia õppetooli liikmetele kriitika ja soovitude eest.

# Kasutatud kirjandus

- Alonso-Alvarez, C., Bertrand, S., Devevey, G., Prost, J., Faivre, B. & Sorci, G. (2004). Oxidative stress as a proximate cost of reproduction. *Ecology Letters* 7: 363-368.
- Alonso-Alvarez, C. & Velando, A. (2012). Benefits and costs of parental care. *The Evolution of Parental Care*. Oxford, Oxford University Press: 40-54.
- Amélineau, F., Grémillet, D., Harding, A., Walkusz, W., Choquet, R. & Fort, J. (2019). Arctic climate change and pollution impact little auk foraging and fitness across a decade. *Scientific Reports* 9: 1014.
- Aseervatham, G. S., Sivasudha, T., Jeyadevi, R. & Arul Ananth, D. (2013). Environmental factors and unhealthy lifestyle influence oxidative stress in humans - an overview. *Environmental science and pollution research international* 20: 4356–4369.
- Beaman, M., Madge, S., Harris, A., Zetterström, D., Burn, H., Tucker, L., Elliott, M., & Hayman, P. (1998). *The Handbook of Bird Identification: For Europe and the Western Palearctic*. London, Bloomsbury Publishing: 701
- BirdLife International. (2018). Alle alle. The IUCN Red List of Threatened Species 2018. <https://www.iucnredlist.org/species/22694837/131932114> Vaadatud 23.05.2022.
- Bize, P., Devevey, G., Monaghan, P., Doligez, B. & Christe, P. (2008). Fecundity and survival in relation to resistance to oxidative stress in a free-living bird. *Ecology* 89: 2584–2593.
- Blount, J. D., Vitikainen, E. I., Stott, I. & Cant, M. A. (2016). Oxidative shielding and the cost of reproduction. *Biological Reviews* 91: 483-497.
- Costantini D. (2008). Oxidative stress in ecology and evolution: lessons from avian studies. *Ecology letters* 11: 1238–1251.
- Crean A. J. & Bonduriansky R. (2014). What is a paternal effect? *Trends in ecology & evolution* 29:554-559.
- Croxall, J., Butchart, S., Lascelles, B., Stattersfield, A., Sullivan, B., Symes, A. & Taylor, P. (2012). Seabird conservation status, threats and priority actions: A global assessment. *Bird Conservation International* 22: 1-34.
- Dias, M., Martin, R., Pearmain, E. J., Burfield, I., Small, C., Phillips, R., Yates, O., Lascelles, B., Borboroglu, P. & Croxall, J. (2019). Threats to seabirds: A global assessment. *Biological Conservation* 237: 525-537.
- Dowling, D. K., & Simmons, L. W. (2009). Reactive oxygen species as universal constraints in life-history evolution. *Proceedings. Biological sciences* 276: 1737–1745.

- Dupoué, A., Blaimont, P., Rozen-Rechels, D., Richard, M., Meylan, S., Clobert, J., Miles, D., Martin, R., Decencière, B., Agostini, S. & Le Galliard, J. (2020). Water availability and temperature induce changes in oxidative status during pregnancy in a viviparous lizard. *Functional Ecology* 34:475–485.
- Eid, Y. Z., Ohtsuka, A., & Hayashi, K. (2003). Tea polyphenols reduce glucocorticoid-induced growth inhibition and oxidative stress in broiler chickens. *British poultry science* 44: 127–132.
- Forman, H. J., Zhang, H. & Rinna, A. (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular aspects of medicine* 30: 1–12.
- Fowler, M. A., Paquet, M., Legault, V., Cohen, A. A., & Williams, T. D. (2018). Physiological predictors of reproductive performance in the European Starling (*Sturnus vulgaris*). *Frontiers in zoology* 15: 45.
- Geiger, S., Le Vaillant, M., Lebard, T., Reichert, S., Stier, A., Le Maho, Y. & Criscuolo, F. (2011). Catching-up but telomere loss: Half-opening the black box of growth and ageing trade-off in wild king penguin chicks. *Molecular ecology* 21: 1500-10.
- Guerrero-Bosagna, C. & Jensen, P. (2015). Globalization, climate change, and transgenerational epigenetic inheritance: will our descendants be at risk? *Clinical Epigenetics* 7: 8.
- Haibo, C., Xin, H., Hui, L., Chen, W., Yao, D., Ping, D., & Yunjiang, Y. (2021). Transgenerational neurotoxicity of polystyrene microplastics induced by oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere* 272: 129642.
- Hao, Y., Zheng, S., Wang, P., Huizhong, S., Matsiko, J., Li, W., Li, Y., Zhang, Q. & Jiang, G. (2021). Ecotoxicology of Persistent Organic Pollutants in Birds. *Environmental Science: Processes & Impacts* 23: 400–416.
- Hardy, M., Day, M. L. & Morris, M. B. (2021). Redox Regulation and Oxidative Stress in Mammalian Oocytes and Embryos Developed In Vivo and In Vitro. *International journal of environmental research and public health* 18: 11374.
- Harshman, L. G., & Zera, A. J. (2007). The cost of reproduction: the devil in the details. *Trends in ecology & evolution* 22: 80–86.
- Hasselquist, D & Nilsson, J. A. (2009). Maternal transfer of antibodies in vertebrates: trans-generational effects on offspring immunity. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 364: 51–60.
- Hou, C., Xiao, G., Amakye, W. K., Sun, J., Xu, Z. & Ren J. (2021). Guidelines for purine extraction and determination in foods. *Food Frontiers* 2: 557-573.
- Injaian, S. A., Taff, C. C. & Gail, L. P. (2018). Experimental anthropogenic noise impacts avian parental behaviour, nestling growth and nestling oxidative stress. *Animal Behaviour* 136.

- Kang, D. H. & Ha, S. K. (2014). Uric Acid Puzzle: Dual Role as Anti-oxidant and Pro-oxidant. *Electrolyte Blood Press.* 12:1-6.
- Kim, S. Y., Noguera, J. C., Morales, J. et al. (2011). Quantitative genetic evidence for trade-off between growth and resistance to oxidative stress in a wild bird. *Evolutionary Ecology* 25: 461–472.
- Lopes, A. R., Borges, F. O., Figueiredo, C., Sampaio, E., Diniz, M., Rosa, R., & Grilo, T. F. (2019). Transgenerational exposure to ocean acidification induces biochemical distress in a keystone amphipod species (*Gammarus locusta*). *Environmental research* 170: 168–177.
- Meniri, M., Evans, E., Thompson, F. J., Marshall, H. H., Nichols, H. J., Lewis, G., Holt, L., Davey, E., Mitchell, C., Johnstone, R. A., Cant, M. A., & Blount, J. D. (2022). Untangling the oxidative cost of reproduction: An analysis in wild banded mongooses. *Ecology and Evolution*, 12.
- Metcalfe, N & Alonso-Alvarez, C. (2010). Oxidative stress as a life-history constraint: The role of reactive oxygen species (ROS) in shaping phenotypes from conception to death. *Functional Ecology* 24: 984 - 996.
- Minich, D. M., & Brown, B. I. (2019). A Review of Dietary (Phyto)Nutrients for Glutathione Support. *Nutrients*, 11: 2073.
- Morgan, H. L. & Watkins, A. J. (2019). Transgenerational Impact of Environmental Change. *Advances in experimental medicine and biology* 1200: 71–89.
- Norwegian Polar Institute. Little auk (*Alle alle*). <https://www.npolar.no/en/species/little-auk/> Vaadatud 23.05.2022.
- Romero-Haro, A. Á., & Alonso-Alvarez, C. (2020). Oxidative Stress Experienced during Early Development Influences the Offspring Phenotype. *The American naturalist* 196: 704–716.
- Romero-Haro, A. Á., Pérez-Rodríguez, L. & Tschirren, B. (2022). Intergenerational Costs of Oxidative Stress: Reduced Fitness in Daughters of Mothers That Experienced High Levels of Oxidative Damage during Reproduction. *Physiological and biochemical zoology* 95: 1–14.
- Santiago-Moreno, J., & Blesbois, E. (2020). Functional Aspects of Seminal Plasma in Bird Reproduction. *International journal of molecular sciences*, 21: 5664.
- Settle, T., Carro, M. & Klandorf, H. (2012). The role of uric acid in the avian species. *Uric Acid: Biology, Functions and Diseases*. 1-30.
- Simoyi, M. F., Van Dyke, K., & Klandorf, H. (2002). Manipulation of plasma uric acid in broiler chicks and its effect on leukocyte oxidative activity. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 282: 791–R796.
- Scheuhammer, A.M. (1987). The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: A review. *Environmental Pollution* 46: 263-295.

- de Souza-Pinto, N. C., Eide, L., Hogue, B. A., Thybo, T., Stevnsner, T., Seeberg, E., Klungland, A., & Bohr, V. A. (2001). Repair of 8-oxodeoxyguanosine lesions in mitochondrial dna depends on the oxoguanine dna glycosylase (OGG1) gene and 8-oxoguanine accumulates in the mitochondrial dna of OGG1-defective mice. *Cancer research* 61: 5378–5381.
- Stein, S. C., de Carvalho, A. M. J., Duarte, M. M. F. M., da Cruz, B. M. I., Premaor, O. M., Comim, V. F., Moretto, B. M. & Moresco, N. R. (2018). High serum uric acid is associated with oxidation of nucleosides in patients with type 2 diabetes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 811: 27-30, ISSN 0027-5107.
- Stempniewicz, L. (2001). Little auk Alle alle. *The Journal of the Birds of the Western Palearctic. BWP (Birds of the Western Palearctic) Update* 3: 175 – 201.
- Stier, A., Delestrade, A., Zahn, S. et al. (2014). Elevation impacts the balance between growth and oxidative stress in coal tits. *Oecologia* 175: 91–800.
- Taniguchi, N., Ohtsuka, A., & Hayashi, K. (1999). Effect of Dietary Corticosterone and Vitamin E on Growth and Oxidative Stress in Broiler Chickens. *Nihon Chikusan Gakkaiho* 70: 195-200.
- Taylor, J. J., Wilson, M. S., Sopinka, M. N., Hinch, G. S., Patterson, A. D., Cooke, J. S. & Willmore, G. W. (2015). Are there intergenerational and population-specific effects of oxidative stress in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*)? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 184: 1095-6433.
- Viblanç, V., Schull, Q., Roth, J., Rabdeau, J., Saraux, C., Uhlrich, P., Criscuolo, F. & Dobson, F. (2017). Maternal oxidative stress and reproduction: Testing the constraint, cost and shielding hypotheses in a wild mammal. *Functional Ecology* 32.
- Vitikainen, E., Cant, M., Sanderson, J., Mitchell, C., Nichols, H., Marshall, H., Thompson, F., Gilchrist, J., Hodge, S., Johnstone, R. & Blount, J. (2016). Evidence of Oxidative Shielding of Offspring in a Wild Mammal. *Frontiers in Ecology and Evolution* 4.
- Votier, S. C., Hatchwell, B. J., Beckerman, A., McCleery, R. H., Hunter, F. M., Pellatt, J., Trinder, M., & Birkhead, T. R. (2005). Oil pollution and climate have wide-scale impacts on seabird demographics. *Ecology letters* 8: 1157–1164.
- Wang, J., Li, Y., Lu, L., Zheng, M., Zhang, X., Tian, H., Wang, W., & Ru, S. (2019). Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Environmental pollution* 254: 113024.
- Wilcox, C., Van Sebille, E. & Hardesty, B.D. (2015). Threat of plastic pollution to seabirds is global, pervasive, and increasing. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112: 11899-11904.

- Williams T. D. (2018). Physiology, activity and costs of parental care in birds. *The Journal of experimental biology*, 221.
- Wojczulanis-Jakubas, K., Jakubas, D. & Stempniewicz, L. (2022). The Little Auk *Alle alle*: an ecological indicator of a changing Arctic and a model organism. *Polar Biology* 45.
- Wolf, J. B. & Wade, M. J. (2009). What are maternal effects (and what are they not)? *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 364: 1107–1115.
- Sun, X., Jiao, H., Zhao, J., Wang, X. & Lin, H. (2017) Unexpected effect of urate on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in embryonic chicken cardiac cells. *Free Radical Research*, 51:7-8, 693-707.
- Yang, Y., Zhou, Y., Sun, J.L., Yao, H. & Ma, L. (2016). Effect of uric acid on mitochondrial function and oxidative stress in hepatocytes. *Genetics and Molecular Research* 15.

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

Mina, Kristel Zimmermann,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Vanemate biokeemiliste konditsiooniindeksite seos poegade kasvu ja tervisega väikealgi (*Alle alle*) näitel”, mille juhendaja on Tuul Sepp, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Kristel Zimmermann

**24.05.2022**