

TARTU ÜLIKOOL
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND
LOOMÖKOLOOGIA ÕPPETOOL

Helerin Lilleleht

Vanemhoole ja pesapoja kasvu füsioloogia -
individuaalne varieeruvus vabaltelaval värvulisel

Magistritöö

Juhendajad: Jaanis Lodjak, PhD
Marko Mägi, PhD

TARTU 2023

Infoleht

Magistritöös uurin vanemhoole mõju hakkidel, kelle pesakonna lennuvõimestumiseks on oluline mõlema vanema pingutus. Vanemhoole ja poegade kasvamise vahelise seose mõõtmiseks saab kasutada kasvufaktorit 1 (IGF-1), millel on tähtis roll sünnieelses- ja järgses arengus. Magistritöös soovin teada, milline on vanemliku pingutuse sooline erinevus manipulatsiooni gruppides ning kuidas on poegade IGF-1 tase seotud vanemate erineva toitmispingutusega. Eelnevatele küsimustele vastamiseks moodustati kontrollgrupp ning vähendatud poegade arvuga grupp. Analüüsid vanemliku pingutuse soolist erinevust selgus, et tulemused vastasid suuresti hakkide soorollide jaotusele, mille puhul emaslinnud viibivad pesas kauem, sugevad poegi ja korrastavad pesa intensiivsemalt kui isaslinnud, kelle ülesandeks on poegade toitmine. Isaslindude suhteline toitmissagedus ühe poja arvestuses on suurem kui emaslindudel ning pesakonna arvukuse vähendamisel toitis isa isaste poegade asemel rohkem emaseid poegi. Poegade IGF-1 tase on tugevalt seotud isase toitmispingutusega, kuna toitmissageduse muutusega vähendatud grupis muutus ka poegade IGF-1 tase.

In my master's thesis, I examine the influence of parental care on jackdaws, where the effort of both parents is crucial for the nestling's fledging success. Growth factor 1 (IGF-1), which plays an important role in prenatal and postnatal development, can be used to measure the relationship between parental care and nestling growth. I aim to determine the sex differences in parental effort within manipulation groups and explore how the IGF-1 levels of the nestlings are associated with the parental feeding effort. To address these questions, a control group and a group with a reduced number of nestlings were formed. Analyzing the sex differences in parental effort, showed that the results corresponded to the distribution of sex roles in jackdaws, where female birds spend more time in the nest, grooming the chicks and cleaning the nest, while male birds are responsible for feeding the nestlings. The feeding frequency of males per nestling is higher than females, and when the brood size is reduced, males tend to feed more females than male nestlings. The IGF-1 levels of the nestlings are strongly associated with the feeding effort of males, as changes in feeding frequency in the manipulated group are causing corresponding changes in the nestlings' IGF-1 levels.

Märksõnad: IGF-1, sex-specific parental effort, brood size manipulation, feeding effort, grooming effort, *Corvus monedula*, jackdaws.

CERCS: B280 Loomökoloogia

Sisukord

1.	Sissejuhatus	6
1.1	Hakid kui vanemhoole evolutsioonilise ökoloogia mudelsüsteem.....	7
1.2	Insuliinilaadne kasvufaktor 1 (IGF-1)	9
1.3	IGF-1 seos keskkonnaga	10
1.4	Magistritöö eesmärk	11
2.	Materjal ja meetodid.....	13
2.1	Uurimisala kirjeldus.....	13
2.2	Töö meetodika	13
2.2.1	Eksperimentaalne protokoll.....	13
2.2.2	Vereproovide võtmine	14
2.2.3	IGF-1 analüüs	15
2.2.4	Videomaterjali analüüs	16
2.3	Andmeanalüüs	16
2.4	Töö autori roll	18
3.	Tulemused	19
3.1	Vanemlik pingutus	19
3.1.1	Vanalindude pesakülastus	19
3.1.2	Vanemhoole intensiivsus.....	19
3.1.3	Vanemhoole tõhusus	20
3.1.4	Individaalse poja vanemhoole	22
3.2	IGF-1 taseme seos toitumisega	23
4.	Arutelu.....	25
4.1	Vanemliku pingutuse intensiivsus ja tõhusus	25
4.2	Individaalse poja vanemhoole	27
4.3	Poegade IGF-1 seos toitmispingutusega.....	29
5.	Kokkuvõte	31
	Summary.....	33
	Tänuavaldus.....	35
	Kasutatud kirjandus	36
	Lisad	40

1. Sissejuhatus

Rohkem kui 99% linnuliikidel esineb lõimetishoole, kuid hoolitsusele kuluv aeg, tüüp ning emas- ja isaslinnu panustamine erineb liigiti (Bunti, 1996). Need erinevused on enamasti seotud liikide paarumiskäitumise ja poegade arenguga, kuid erinevusi võivad põhjustada ka elukoht, toitumine ning kurna suurus (Silver, 1985). Värvulised (*Passeriformes*) kuuluvad pesahoidjate lindude hulka, nende pojad on koorudes pimedad, liikumisvõimetud ning sõltuvad tootumisel ja kehasooja hoidmisel täielikult vanematest (Dial, 2003). Selline poegade kasvatustrategia on vanalindudele kulukas, kuid seostub poegade suurema eduga hilisemas elus võrreldes pesahülgaajate liikidega, kelle poegade suremus on suurem (Dial, 2003; Silver, 1985). Vanemhool on seotud paljunemise hinnaga, mis on lõivsuhe vanalindude hetke ja tulevase paljunemise vahel (Santos & Nakagawa, 2012). Pesahoidjate jaoks on vanemhool kulukam kui pesahülgaajatele liikidele, kuna nende pojad on koorudes abitud ning poegade lennuvõimestumiseks peavad vanemad rohkem panustama (Dial, 2003). Teoreetiliselt on ressursid piiratud ning nende jagamine järglaskonnale vähendab vanalinnu kohasust, kuid Stearns (1992) väidab, et selline lõivsuhe saab esineda ainult toidu nappuse korral. Andmed, mis kinnitaksid paljunemise hinna teooriat, on piiratud, kuna enamik linnuliike pesitseb kevadel või varasuvel, kus toitu on küllaldaselt (Williams, 2018). Paljunemise hinna uurimiseks on oluline määrata selle füsioloogilised alused, kuid selle keerukuse tõttu on paljud artiklid jõudnud vastakate tulemusteni. Paljunemise hinna uurimisel tuleb arvestada pesitsusaja kestuse, lennuaja osakaalu tootumisel, isendite individuaalse varieeruvuse ning erinevate homöostaasi säilitavate mehhanismidega (Williams, 2018). Lisaks toovad Santos & Nakagawa (2012) linnuliike koondavas teoreetilisest artiklist välja, et paljunemise hind erineb sugude vahel, kus pesakonna suurendamine vähendas isaslindude ellujäämistõenäosust, kuid ei mõjutanud emaslindude oma.

Vanemlik hoolitsus erineb linnuliikide vahel, kus osadel liikidel hoolitseb poegade eest rohkem isane ning teistel emane. Kuid esineb ka liike, kus vanemlik pingutus vanema sugude vahel on võrdne. Sotsiaalne monogaamia esineb 92% linnuliikidest, kuid see ei tähenda vanemate võrdset panust poegade kasvatamisel (Lack, 1968). Mõlema vanema hool esineb 75% liikidest ning isased ja emased sünkroniseerivad pesitsusajal oma hoolitsuskäitumist, et maksimeerida vanemhoole mõju (Leniowski & Węgrzyn, 2018; Cockburn, 2006). Mõlema vanema hoolega liikidel esineb sooline konflikt vanemliku pingutuse osas, kus ühe

vanema pingutuse määr on seotud teise vanema pingutuse intensiivsusega. Pesakonna kasvatamine on vanematele kulukas, seega on kummalegi vanemale kasulik, kui teise vanemlik pingutus on nende omast suurem (Bebbington & Hatchwell, 2015). Sugudevaheline vanemhoole sünkroonimine vähendab pesa ja vanalindude kisklust ning kiirendab pesapoegade arengut (Leniowski & Węgrzyn, 2018). Lisaks võimaldab hoolitsuskäitumiste sünkroonimine jälgida üksteise vanemlikku pingutust ning vähendada seeläbi vanalindude vahelist soolist konflikti (Leniowski & Węgrzyn, 2018; Bebbington & Hatchwell, 2015).

Vanalindude eesmärgiks on tagada enda geenide maksimaalne esindatus järgmistes põlvkondades, mistõttu on oluline, et võimalikult palju poegi jääks ellu. Suurem poegade arv pesas põhjustab ka vanematele intensiivsemat pingutust. Poegade jaoks on oluline saada rohkem vanemlikku hoolt ning sellega suurendada enda kohasust võrreldes õvedega (Trivers, 1974; Mock, 2022). Selline vanema ja poja vaheline konflikt põhjustab järgmise probleemi – lõivsuhe järglaste hulga ja kvaliteedi vahel. Kui järglasi on palju, siis nende ellujäämise tõenäosus on väiksem, kuna kõigile ei jätku piisavalt ressursi. Kui aga poegi on liiga vähe, siis on nende ellujäämise tõenäosus küll suurem, kuid vanalindude geenide edasikandumine on madalam (Mock, 2022; Lack, 1948; 1954). Munemise ajal on raske ennustada valitsevaid keskkonnaolusid poegade koorumisel, mistõttu on mõistlik muneda suurem kurn ning keskkonnaolude halvenemisel kahandada pesapoegade arvu – toimub pesakonna reduktsioon (Lack, 1948). Pesakonna reduktsiooni alla kuulub ka asünkroonne haudumine ja koorumine, mis põhjustab kehvade toiduolude korral viimase poja nälgimise (Mock, 2022; Lack, 1948; Magrath, 1989).

1.1 Hakid kui vanemhoole evolutsioonilise ökoloogia mudelsüsteem

Vanemhoole mõju uurin hakkidel (*Corvus monedula*), kes kuuluvad kõige liigirikkamasse lindude seltsi – värvulised (*Passeriformes*). Hakid on head uurimiseks oma laialdase leviku, suhteliselt pika eluea, sotsiaalsuse, oportunistliku toitumise ning mõlema vanema hoole tõttu (Kubitza, et al., 2014). Hakid on sotsiaalsed linnud ning populatsioonis moodustavad üheskoos pesitsevaid gruppe, mis koosnevad sotsiaalselt monogaamsetest paaridest (Henderson & Hart, 1995). Gruppides kujuneb hierarhia, kus paari moodustanud või kohalikud isendid (ingl.k. *resident*) on kõrgemal hierarhilisel tasemel kui üksikud või läbirändajad (ingl.k. *non-residents*) (Kubitza, et al., 2014; Röell, 1978). Samuti on kõrgemal

sotsiaalsel positsioonil vanemad paarid (Henderson & Hart, 1993). Hakid on oportunistlikud toitujad, kuid peamiseks toiduobjektiks on selgrootud ning toitutakse peamiselt grupis. Grupiviisilistes toiduotsingutes on oluline sotsiaalne hierarhia, eriti toidunappuse korral, kus hierarhias kõrgemal positsioonil olivad saavad eelise (Henderson & Hart, 1993). Dominantsed paarid toidavad oma poegi sagedamini ning pesakonnast lennuvõimestub suurem arv poegi võrreldes madalamal positsioonil olevate paaridega (Henderson & Hart, 1995). Henderson & Hart (1993) näitasid oma uurimuses, et lisaks sotsiaalsele hierarhiale mõjutab paarumisedukust ka linnu vanus, põhjuseks oskuslikum toidu leidmine ja targem ressursside jaotamine.

Monogaamsust soodustab ka kulukas lõimetishoole, mistõttu isaslinnu panus pesakonna kasvatamisel on oluline (Henderson & Hart, 1993). Hakid moodustavad monogaamsed paarid enamasti talvel, pärast esimest eluaastat ning moodustunud paarid püsivad terve elu, isegi kui poegade kasvatamine ebaõnnestub mitmel järjestikusel aastal (Röell, 1978). Pesitsusedukuse tagamisel on oluline isaslinnu panus, kelle peamiseks ülesandeks on toidu toomine poegadele ning emase toitmine haudeperioodil (Henderson & Hart, 1995; Röell, 1978). Pesakonna suremus on suurim esimese kümne päeva jooksul pärast koorumist ning korreleerub positiivselt isaslinnu toitmissagedusega (Henderson & Hart, 1993). Pesakonna lennuvõimestumisel on oluline siiski mõlema vanema roll, kus emaslind vastutab peamiselt poegade sugemise ja isaslind toitmise eest (Kubitza, et al., 2014). Röell (1978) näitas oma uurimuses, et üks kõik kumma vanema eemaldamisel pesakond enamasti hukub.

Hakid munevad ühe kurna aastas ning pesakonna hävimisel tavaliselt pesitsushooajaga ei jätkata, ehk järelkurna munemise tõenäosus on väga madal (Röell, 1978). Pesitsusperioodi pikkus ning poegade lennuvõimestumine sõltub pesakonna suurusest ning toidu saadavusest. Hollandis, kust pärinevad käesoleva magistrیتöö andmed, alustavad hakid munemist aprilli keskel. Haudeperiood kestab umbes 18 päeva ning pärast koorumist jäävad pojad pessa kuni viieks nädalaks (Röell, 1978). Hakipojad kooruvad asünkroonselt, mis tähendab, et emalind hakkab hauduma siis, kui täiskurn pole veel munetud. Asünkroonne koorumine põhjustab pesakonnas poegade kaalu varieeruvust ja tihti ka viimasena koorunud poja surma (Gibbons, 1987). Näitena pesapoegade kaalu varieeruvusest võib tuua selle töö põhjal, kus kõikide poegade arvestuses oli suurima ja väiksema massiga hakipoja kaalu erinevus 110 grammi. Asünkroonne koorumine on adaptiivne kohastumus, mille põhjus ilmneb toidupuuduse korral, sest hiljem koorunud poeg sureb nälga kiirelt (Gibbons, 1987; Lack, 1954). Lisaks keskkonnaoludele ja koorumise järjekorrale mõjutab poegade ellujäämist ka poja sugu.

Hakkidel esineb sooline dimorfism suuruses, kus isased on emastest suuremad ning seetõttu on nende energiavajadus suurem (Arnold & Griffiths, 2003). Arnold & Griffiths (2003) näitasid oma uurimuses, et halbade toidu- ja keskkonnaolude korral on emaste poegade ellujäämise tõenäosus suurem, kui isastel.

1.2 Insuliinilaadne kasvufaktor 1 (IGF-1)

Koorumisjärgne kasvukiirus on oluline elukäigutunnus, mis mõjutab isendi kohasust läbi ellujäämise ning tulevase paljunemisedukuse (Stearns, 1992). Kõige paremini uuritud elukäigutunnused on kasvukiirus, vanus suguküpsuse saavutamisel, viljakus ning eluiga – eluea ja teiste nimetatud elukäigutunnuste vahel esineb lõivsuhe (Dantzer & Swanson, 2012). Vanemhoole ja poegade kasvamise vahelise seose mõõtmiseks saab kasutada insuliinilaadset kasvufaktorit 1 (IGF-1), mis kuulub insuliini ja insuliinilaadsete kasvufaktorite funktsionaalsesse süsteemi (Jones & Clemmons, 1995). Katseliselt on näidatud, et sel on oluline roll sünnieelses- ja järgses arengus, kuid siiski puudub täpne arusaam, kuidas IGF-1 mõjutab organismi arengut vabas looduses (Dantzer & Swanson, 2012; Stratikopoulos, et al., 2008). Varasemalt arvati, et IGF-1 vahendab kasvuhormooni mõjusid, kuid nüüdseks on teada, et sel on oma roll (Jones & Clemmons, 1995). IGF-1 on kasvuhormoonist (GH) sõltuv peptiid, mis kiirendab näiteks lihaste, luustiku ja teiste kudede arengut enne ja ka pärast sündimist (Stratikopoulos, et al., 2008). Keskkonnamõjud ja organismi enda füsioloogiline seisund mõjutavad kasvuhormooni vabanemist ajuripatsist ning kasvuhormooni suurenenud tase veres algatab IGF-1 sünteesi (Dantzer & Swanson, 2012; Jones & Clemmons, 1995). IGF-1 on sarnane molekulaarne struktuur insuliinile ning seda sünteesitakse maksas või lokaalselt teistes kudedes (Nakae, et al., 2001).

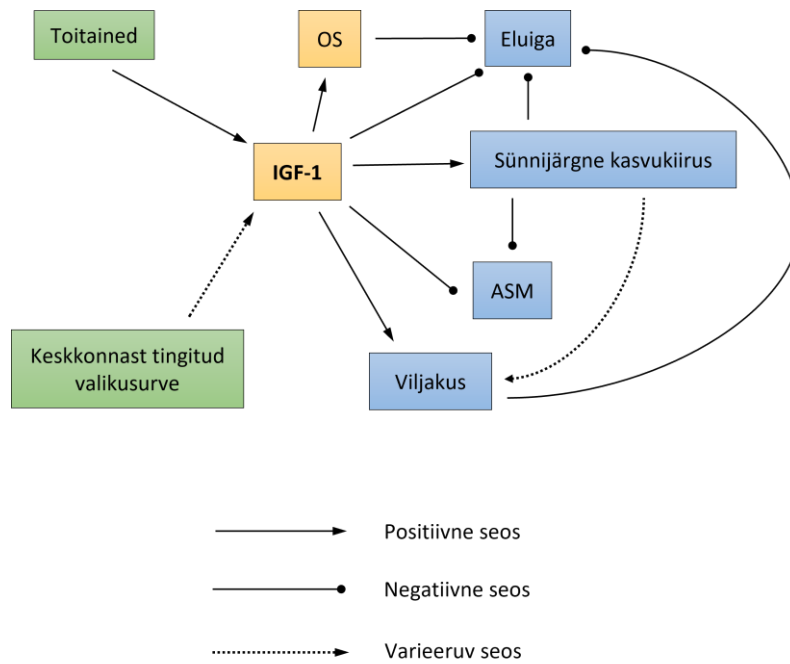
Lisaks kolmele ligandile (IGF-1, IGF-2 & insuliin) kuuluvad insuliini ja insuliinilaadsete kasvufaktorite funktsionaalsesse süsteemi ka kolm retseptorit (IGF1r, IGF2r & Ir) ning IGFi siduvad valgud (IGFBP). Süsteemis kannavad siduvad valgud IGF-ligandid kudedesse ning aitavad neil kinnituda raku pinnal olevatele retseptoritele (Nakae, et al., 2001). Insuliinilaadsete kasvufaktorite funktsionaalse süsteemi muudab eriliseks see, et kuigi igal retseptoril on oma roll, kattuvad nende funktsioonid, mis võimaldab näiteks IGF-1-l seostuda insuliini retseptoriga, kuid madalama efektiivsusega (Nakae, et al., 2001; Hwa, et al., 1999). Raku pinnal paiknevad retseptorid vahendavad IGF molekulide füsioloogilisi efekte ning füsioloogilise mõju tugevus sõltub retseptorite tihedusest rakkude pinnal ning IGFBP

valkude tasemest ja seotusest (Nakae, et al., 2001). Vereringes ja kudedes on suur osa IGF molekulide seotud IGFBP valkudega, mis seostuvad IGF molekuliga samaväärselt või paremini kui rakkude pinnal paiknevad IGF retseptorid (Allard & Duan, 2018). Kandjavalkudega seotus inhibeerib IGF molekuli aktiivsust, kuna ei lase molekulil seostuda retseptoritega ning pikendab selle poolestusaega organismis (Allard & Duan, 2018; Nakae, et al., 2001). Bioloogiliselt aktiivseid, ehk IGFBP-ga mitte seotud IGF molekulide, esineb organismis vähe, ~ 5 – 10 % ulatuses kogu IGF hulgast (Allard & Duan, 2018; Lodjak & Verhulst, 2020).

1.3 IGF-1 seos keskkonnaga

IGF-1 sünteesi mõjutajaks on organismi füsioloogiline seisund ja keskkond ning insuliinilaadsete kasvufaktorite keeruline süsteem võimaldab selgroogsetel kiirelt reageerida muutuvatele keskkonnatingimustele (**Joonis 1**) (Lodjak & Verhulst, 2020; Dantzer & Swanson, 2012). IGF-1 tase sõltub tarbitud toidu hulgast ja kvaliteedist ning reageerib neile kiiresti, mistõttu nälgimise ajal IGF-1 tase veres ja kudedes langeb. Kehv toitumus varajases eluetapis mõjutab tugevalt IGF-1 sünteesi, mis omakorda tingib poegade aeglasema kasvu, väiksema kehamassi, krooniliste haiguste esinemise ning suurema koorumisjärgse suremuse (Dantzer & Swanson, 2012). IGF-1 süntees sõltub suuresti toidu kvaliteedist, nii selle mikro- kui ka makrotoitainetest (Meyrier, et al., 2017).

Lisaks toidu hulga ja kvaliteedile sõltub IGF-1 tase ka stressist, täpsemalt glükokortikosteroididest (GC) ja oksüdatiivsest stressist (Lodjak & Verhulst, 2020). IGF-1 ja glükokortikoidid on mõlemad toidust sõltuvad peptiidid, mõjutades üksteise sünteesi ning hea toitumuse korral on nende vaheline seos positiivne (Ross & Buchanan, 1990). Toidupuuduse korral muutub seos negatiivseks ning pojad peavad jaotama ressursi kasvamise või muude füsioloogiliste ning käitumuslike tegevuste (nt sugemine) vahel (Lodjak & Verhulst, 2020; Ross & Buchanan, 1990). IGF-1 ning tema homologid reguleerivad erinevaid geene, mis on seotud rakustressiga, antimikroobse aktiivsuse ning oksüdatiivse stressiga (Kenyon, 2010). Arvatakse, et suurem aktiivsus insuliinilaadsete kasvufaktorite süsteemis vähendab vastupanu võimet oksüdatiivse stressi ees, mis põhjustab eluea lühenemist (Dantzer & Swanson, 2012).



Joonis 1. Ajalised ja füsioloogilised lõivsuhted erinevate elukäiguomaduste vahel. Elukäiguomadused on sinisel taustal: eluiga, sünnijärgne kasvukiirus, vanus suguküpsuse saavutamisel (ASM, *age at sexual maturity*) ja viljakus. Keskkonnategurid paiknevad rohelisel taustal: toitained ja keskkonna tekitatud valikusurve. Kollasel taustal on märgitud füsioloogilised mehhanismid: IGF-1 ja oksüdatiivne stress (OS, *oxidative stress*). Noole ja punktiga lõppevad jooned viitavad füsioloogilisele või ajalisele lõivsuhtele, kus nooleotsaga joon kujutab positiivset suhet kahe teguri vahel ning punktiga joon negatiivset. Punktirjoon näitab, et kahe teguri vaheline suhe on väga varieeruv, liigispetsiifiline või pole suhet veel piisavalt uuritud (Dantzer & Swanson, 2012). Joonise originaal pärineb Dantzer & Swanson (2011) artiklist.

1.4 Magistritöö eesmärk

Magistritöös uurin haki pesapoegade kasvamise füsioloogia ja vanemhoole seoseid eksperimentaalselt muudetud pesakonnasuurusega pesades. Magistritöö andmed koguti Hollandis, kus pesitsevate hakkide pesakastidesse paigutati kaamerad, mis salvestasid poegade ja vanalindude käitumist. Lisaks videomaterjali analüüsimisele mõõdeti poegade kaal ning filmimise järgne IGF-1 tase veres ning looduslikku varieeruvust ja eksperimentaalset varieeruvust kombineerides seadsin järgnevad uurimisküsimused:

- 1) Milline on vanemliku pingutuse sooline erinevus manipulatsiooni gruppides (vanema seisukohast vaadates):
 - a. vanalindude pesas viibimise ajale?
 - b. poegade külastamise sagedusele?

- c. vanemlikule poegade toitmis- ja sugemissagedusele ning pesakorrastamise sagedusele (keskmine kordade arv tunnis)?
 - d. vanemlikule poegade toitmis- ja sugemissagedusele ning pesakorrastamise tõhususele (keskmine kordade arv pesakülastustest)?
- 2) Kas vanemlik pingutus poja kohta erineb vanalindude soo ja manipulatsiooni gruppide vahel (poja seisukohast vaadates):
- a. toitmissageduses?
 - b. sugemissageduses?
- 3) Kuidas on poegade IGF-1 tase seotud isase ning emase erineva pingutusega?

2. Materjal ja meetodid

2.1 Uurimisala kirjeldus

Magistritöö andmed pärinevad Gronigeni linna lähedalt (53,17° N, 6,61° E) Hollandist, kus 2019. aastal uuriti vabaltelavaid hakke vahemikus aprillist juunini. Hakk on kolooniates elav suluspesitsev ja oportunistlikult toituv vareslane (*Corvidae*). Uuritavas linnupopulatsioonis on 120 pesakasti, mis jagunevad kuueks kolooniaks. Pesakastide pikaajaline keskmine hõivatus on üle 90%. Kõik kolooniad asuvad mõne kilomeetriste vahedega põllumajandusmaastikus, kus tamme alleedel (*Quercus robur* L.) paiknevad pesakastid on ümbritsetud majandatavate heinamaadega. Pesakastid asuvad 4-5 meetri kõrgusel ning paiknevad üksteisest kuni 5 meetri kaugusel.

2.2 Töö metoodika

2.2.1 Eksperimentaalne protokoll

Alates pesitusaja algusest kontrolliti kõiki pesakaste iga kolme päeva tagant, et saada täpne munemise alguse kuupäev. Hakid munevad ühe muna päevas ning regulaarsete kolooniate külastustega registreeriti igas pesakastis täiskurn ning edasise haudumise vältel pesi enam ei häiritud kuni teoreetilise munade koorumiseni 18 päeva pärast. Hakid alustavad tihti haudumist enne kurna täitumist, mis tingib poegade asünkroonse koorumise aja. Koorumise kuupäev on määratud kõige varasema poja järgi (koorumine päev = vanus 1 päev).

Ühtse munemise alguse kuupäevaga pesakastidest moodustati paarid, kus ühes pesakastis vähendati poegade arvu ning teises jäeti poegade arv samaks. Poegade arvu vähendamiseks torgati kahte munasse auk, mis takistab selles munas elujõulise poja arengu. Munade torkamine viidi läbi täiskurna saavutamise järgselt. Auguga munad jäeti haudumise ajaks pessa uue muna munemise vältimiseks. Häirimise tase ja munade käsitlemine oli kontrollgrupis sarnane vähendatud pesakondade gruppidele, kuid munadesse auku ei torgatud. Poegade koorumise järgselt registreeriti pesakonnasuurused lähtuvalt poegade vanusest 5, 10, 15, 20. ja 30. päeval (**Tabel 1**). Igalt pojalt võeti viie päeva vanuselt vereproov (~15µl) molekulaarseks soomääramiseks. Eelnevad protseduurid on osa standardiseeritud longitudinaalsest katsest hakkidega (Verhulst & Salomons, 2004; Boonekamp, et al., 2017; Salomons, et al., 2008).

Tabel 1. Poegade keskmine \pm SD arv pesas erinevates pesakonnasuuruse manipulatsiooni gruppides.

Manipulatsioon	5. päev	10. päev	15. päev	20. päev	30. päev
Kontroll	4,10 \pm 1,23	3,97 \pm 1,35	3,92 \pm 1,40	3,78 \pm 1,22	3,24 \pm 1,09
Vähendatud	2,57 \pm 0,62	2,53 \pm 0,68	2,50 \pm 0,73	2,46 \pm 0,82	2,39 \pm 0,90

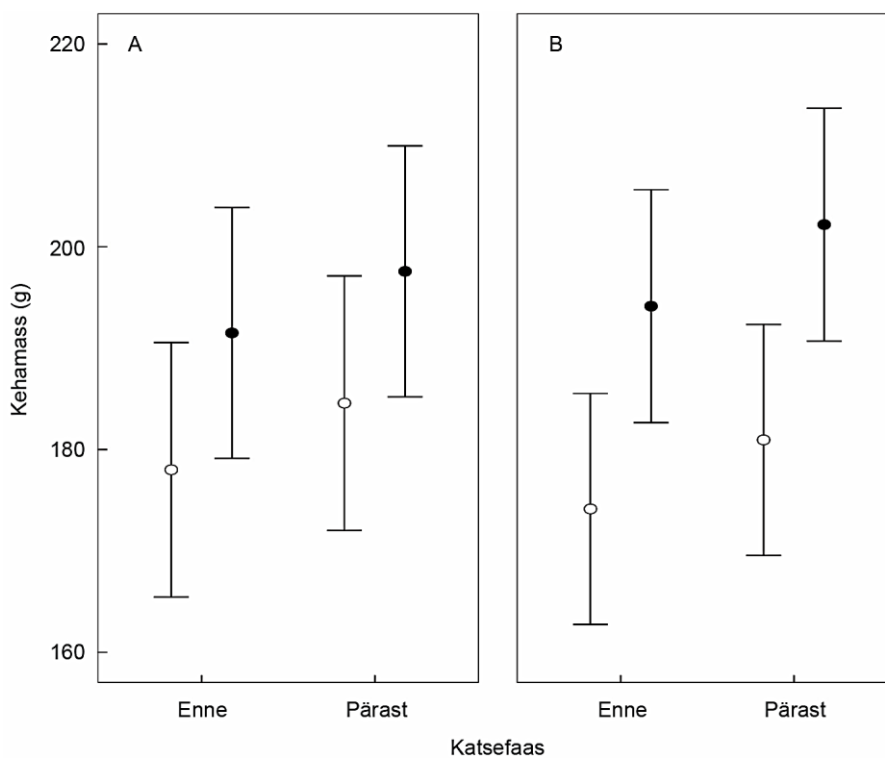
Kui pojad olid 15 päeva vanad filmiti pesades vanemate käitumist eesmärgiga registreerida vanemhoole varieeruvust vähendatud ja kontroll pesakondades. Enne kaamera paigaldamist tehti poegadele valge ja musta markeriga unikaalsed märgistused pealaele ja nokale. See võimaldab registreerida vanemhoolt iga poja suhtes, mitte keskmistada üldist hoolet üle pesakonna suuruse. Ühtlasi registreeriti poegade kaal elektroonilise kaaluga (täpsus 1,0 g) enne ja pärast filmimist. Sama koorumise kuupäevaga paare filmiti samal päeval. Filmimiseks kasutati *Handykam.com* (Holland) kaamerat HK100025 koos salvestajaga HK101109. Kaamera paigutati pesakasti vahelae külge vaatesuunaga ülevalt alla ning eemaldati pesakastist kohe filmimise lõppedes.

Valimi moodustasid 26 pesakonda (13 kontrollgrupist ja 13 vähendatud grupist). Uuritavaid poegi oli kokku 70. Mõlemad poja sood olid esindatud manipulatsiooni gruppides võrdsel määral. Vähendatud pesakondades oli 14 emast ja 14 isast poega ning kontroll pesakondades oli 21 emast ja 21 isast poega. Filmimise ajaks (poegade vanus 15 päeva) olid poegade kehamassid jõudnud sugude vahel erinevaks muutuda. Nimelt olid isased ~10% raskemad emastest ($F_{1,65.6} = 11,69$; $p = 0,001$; **Joonis 2**). Samas oli filmimise jooksul toimunud massikasv ($6,99 \pm 0,55$; keskmine \pm SE) sarnane kõikide poegade jaoks (manipulatsioon * poja sugu * katse faas [enne vs pärast]: $F_{1,66.0} = 0,59$; $p = 0,45$; **Joonis 2**).

2.2.2 Vereproovide võtmine

Koheselt pärast filmimise lõppu koguti kõigilt poegadelt vereproov ~200 μ l IGF-1 taseme määramiseks vereplasmast. Iga poja vereproovi võtmiseks kulus igal korral alla nelja minuti, mille järel viidi poeg tagasi pessa. Vereproov võeti tiivaveenist ning verevõtu koht steriliseeriti enne proovi võtmist ning proovi võtmise järgselt peatati veritsus vatitampooniga. Vereproovide kogumise ajal hoiti proove 4° C juures külmakastis, mis seejärel viidi välilaborisse. Laboris toimus vereproovide tsentrifuugimine plasma ja rakkude

eraldamiseks, peale mida hoiustati plasmat -20°C juures. Vereproovide kogumisest kuni plasma hoiustamiseni kulus maksimaalselt kuus tundi.



Joonis 2. Filmimise jooksul toimunud poegade massikasv. Y-teljel on poegade kehamass grammides, x-teljel on kujutatud katsefaasi aega, ehk enne ja pärast filmimist. Valged täpid kujutavad emaseid, mustad täpid isaseid poegi. Vasakpoolne graafik (A) näitab poegade massi muutust vähendatud poegade grupis, parempoolne (B) kontrollgrupis. Veajooned tähistavad 95% usaldusintervalli.

2.2.3 IGF-1 analüüs

Vereplasmat ei ekstraheeritud alkohol/hape lahusega (Lodjak, et al., 2014), vabastamaks IGF-1 hormooni tema kandjavalkudest (IGFBP). Antud töös keskenduti vabale IGF-1 fraktsioonile, mis ei ole seotud kandjavalkudega ehk bioloogiliselt aktiivsele hormooni fraktsioonile, mis on võimeline otse kinnituma vastavatele retseptoritele (Janssen, et al., 2003). IGF-1 taseme mõõtmiseks kasutati Debreceni ülikoolis väljatöötatud IGF-1 immunoensüümanalüüsi (ELISA) meetodit (Mahr, et al., 2020). Iga isendi proov analüüsiti kahes korduses (igaühe jaoks 20 μl plasmat). Ristreaktiivsus IGF-2 ja insuliiniga oli alla 1% (Mahr, et al., 2020). Analüüsimeetod valideeriti hakile kasutamiseks, näidates järjestikku lahjendatud proovide ja standardkõvera paralleelsust. Kõik proovid analüüsiti korruga ning Debreceni ülikooli poolt väljastatud andmestik oli keskmistatud üle kordumõõtmiste ja kordumõõtmiste variatsioonikoefitsent oli $<5\%$.

2.2.4 Videomaterjali analüüs

Videomaterjali analüüsimiseks kasutasin programmi Solomon Coder beta 19.08.02. Kokku oli videofaile 167 ning keskmiselt 6,4 faili pesa kohta. Failide kogupikkus varieerus pesakastide vahel, ühe pesakasti keskmine filmimise pikkus oli 5 tundi ja 57 minutit \pm 43 minutit (SD). Filmimise aeg hakkas pihta, kui esimene vanalind lendas pesa pärast kaamera paigaldamist. Käitumuslike tunnuste analüüsimiseks koostas programmis töölaua, mis võimaldas saada andmeid poegade ning emas- ja isaslindude kohta (**Lisa 1**). Analüüsitavad tunnused vanalindude kohta olid: pesas viibimise aeg ja külastuskordade arv, pesa korrastamiste arv ning poegade sugemis- ja toitmiskordade arv. Pojale määrasin videomaterjali analüüsis unikaalse identifikaatori ühest kuueni, mis võimaldas saada informatsiooni, kui palju iga poeg vanemlikku hoolitsust sai. Videofaile vaatasin iga pesa korral ajalises järjestuses. Vanalinnu pesas viibimist märkisin programmis siis, kui vanalind oli füüsiliselt pesas. Pesakasti katusel ning läheduses paiknemist, mida oli võimalik tuvastada hääle põhjal, ma ülesse ei märkinud. Pesa korrastamine ja poegade sugemine oli jätkuv tegevus, kus vanalind tihti peatus valvsuse hoidmiseks. Peatumise hetkedel ma tegevusi programmis ei märkinud. Ühe poja toitmise märkisin toimunuks, kui esines poja ja vanalinnu nokkade füüsiline kontakt ning nokkade füüsiline liigutamine. Pesakasti videomaterjali läbitöötamisel salvestasin videod Solomon coder'i failidena, millest lõin hiljem csv-failid, mida kasutati andmeanalüüsis.

2.3 Andmeanalüüs

Andmeanalüüsiks kasutati meetoditena üldistatud lineaarseid segamudelit (GLMM) ja üldist lineaarset segamudelit (LMM) ning kokku tehti 12 statistilist mudelit (**Tabel 2**). Esimene mudel oli ainuke GLMM, mida kasutati koos binoomse jaotusega ning filmimise aeg oli kaaluna mudelisse kaasatud; kõik järgnevad (mudelid 2-12) mudelid olid LMM meetodil. Esimesed kaheksa mudelit keskendusid üldisele vanemhoole pingutuse kirjeldamisele ning viimased neli mudelit keskendusid iga individuaalse pojaga seotud vanemhoole varieeruvusele. Sõltumata kasutatud meetodist (LMM või GLMM), oli igasse mudelisse kaasatud juhuslikuks faktoriks pesa unikaalne ID, et olenevalt mudelist võtta arvesse asjaolu, et eri soost vanalinnud olid ühe pesa vanemad (mudelid 1-8) või mõõdetud pojad olid ühes mudelis pesakonna kaaslastega (mudelid 9-12). Mudelites 1-8 oli valimi suurus 52 vanalindu ja 26 pesakasti. Seega oli igas pesas tasakaaluliselt esindatud mõlemad vanemad. Mudelites 9-12 oli valimi suuruseks 70 poega ehk kõik pojad, kes olid 26 pesakastis.

Tabel 2. Analüüsis kasutatud mudelite kirjeldus.

Mudel	Sõltuv muutuja	Sõltumatud muutujad		
		Hüpoteesist lähtuvad		KV **
1	pesas viibimise aeg / filmimise pikkus	vanema sugu	manipulatsioon	vanema vanus
2	(pesakülastuste arv / filmimise pikkus) / 3600 *	vanema sugu	manipulatsioon	kurna suurus
3	(toitmiskordade arv / filmimise pikkus) / 3600 *	vanema sugu	manipulatsioon	kurna suurus
4	toitmiskordade arv / pesakülastuste arv	vanema sugu	manipulatsioon	
5	(sugemiskordade arv / filmimise pikkus) / 3600 *	vanema sugu	manipulatsioon	
6	sugemiskordade arv / pesakülastuste arv	vanema sugu	manipulatsioon	
7	(pesa korrastamiste arv / filmimise pikkus) / 3600 *	vanema sugu	manipulatsioon	
8	pesa korrastamiste arv / pesakülastuste arv	vanema sugu	manipulatsioon	kurna suurus
9	(vanema toitmiskordade arv / filmimise pikkus) / 3600 *	vanema sugu	manipulatsioon	poja sugu emase vanus
10	(vanema sugemiskordade arv / filmimise pikkus) / 3600 *	vanema sugu	manipulatsioon	poja sugu
11	IGF-1 tase	isa suhteline toitmissagedus	manipulatsioon	poja sugu
12	IGF-1 tase	ema suhteline toitmissagedus	manipulatsioon	poja sugu

* Jagamine 3600 toimus, et sekundites mõõdetavat tunnust väljendada tundides

** Kovariaadid vanema konditsiooni hindamiseks, mis ei omanud hüpoteesi seisukohalt tähtsust

Vastavalt püstitatud eesmärkidele, kaasati igasse analüüsitud mudelisse kõrgeim võimalik interaktsioon koos madalama taseme mõjudega, mida vastav sõltumatute muutujate arv võimaldas (**Tabel 2**). Oluline on märkida kahte asja. Esiteks IGF-1 mudelites (mudelid 11 ja 12) kovariaadina kaasatud vanemate toitmissagedus korrigeeriti poja filmimise aegse massimuuduga, kuna massimuudust sõltuv vanema toitmissagedus kirjeldas IGF-1 varieeruvust paremini. Juhin tähelepanu, et originaal ja korrigeeritud toitmissageduse

tulemused olid sarnased. Teiseks, igasse mudelisse lisati algselt ka kovariaatidena munemise algus, kurna suurus ja vanemate vanus. Need kolm tunnust on olulised vanalindude konditsiooni indikaatorid, mis võivad mõjutada hüpoteesidega seatud seoseid, kuid ei ole hüpoteeside seisukohalt olulised. Kovariaadid jäeti sisse ainult siis, kui neil oli statistiliselt oluline mõju (**Tabel 2**). Igas mudelis kasutati peamõjude ning koosmõjude analüüsiks II tüüpi summaarset ruuthälvet, mis võimaldab ühes mudelis mõlemat tüüpi mõjusid korruga ja usaldusväärset hinnata. Viimase tegemiseks kasutati *car* paketti R tarkvarale (Fox & Weisberg, 2019).

Andmeanalüüsi eelduste täidetuse uurimiseks koostasid jääkide kohta histogrammi ning kontrollisin normaaljaotust ja hajuvust vastavalt Shapiro (Shapiro & Wilk, 1965) ja Levene (Levene, 1960) testidega. Uuritavad tunnused logaritmi- (mudelid 2-10) ja arcustangens-transformeeriti (mudelid 11-12), et mudelite eeldused oleksid täidetud. Edasiseks mitmikvõrdluste (*post-hoc*) analüüsiks kasutati *emmeans* paketti R tarkvarale (Lenth, 2023), mis võimaldas hinnata mudeli poolt ennustatud diskreetsete tunnuste tasemete keskmisi ning analüüsida gruppide vaheliste erinevuste statistilist usaldusväärset koos olulisusenivoo korrigeerimisega (Tukey meetod).

Andmete analüüsimisel kasutasin statistilist tarkvara R v. 4.2.3 (R Core Team, 2022). Mudelite koostamisel kasutasin *lme4* (Bates, et al., 2015) ning *lmerTest* (Kuznetsova, 2017) pakette. Jooniste tegemisel kasutasin *visreg* (Breheny & Burchett, 2017) ning *ggplot2* (Wickham, 2016) pakette.

2.4 Töö autori roll

Siinse magistr töö andmed pärinevad Hollandist (Groningeni ülikoolis), kus toimus pesakastide manipulatsioon ja filmimine ning vereproovide võtmine. IGF-1 analüüs tehti Ungaris (Debreceni ülikoolis). Minu panuseks oli filmitud materjali vaatamine, käitumiste märkimine Solomon Coder'is, statistiliste mudelite koostamine ja tõlgendamine. Samuti magistr töö esmase versiooni kirjutamine ning hilisem redigeerimine.

3. Tulemused

3.1 Vanemlik pingutus

3.1.1 Vanalindude pesakülastus

Vanalindude pesas viibimise aeg ei erinenud manipulatsiooni gruppide vahel ($\chi^2 = 0,03$; $df = 1$; $p = 0,87$), kuid erines vanemate sugude vahel ($\chi^2 = 108150,0$; $df = 1$; $p < 0,001$). Emased viibisid filmitud ajast pesas 32,8% (SE = 4,0%), kuid isased 1,2% (SE = 0,2%). Samas oli sugudevaheline pesas viibitud aja erinevus sarnane manipulatsiooni gruppides ($\chi^2 = 0,53$; $df = 1$; $p = 0,47$). Vanema vanusel oli kovariaadina oluline positiivne mõju pesas viibitud ajale ($\chi^2 = 3,48$; $df = 1$; $p = 0,003$).

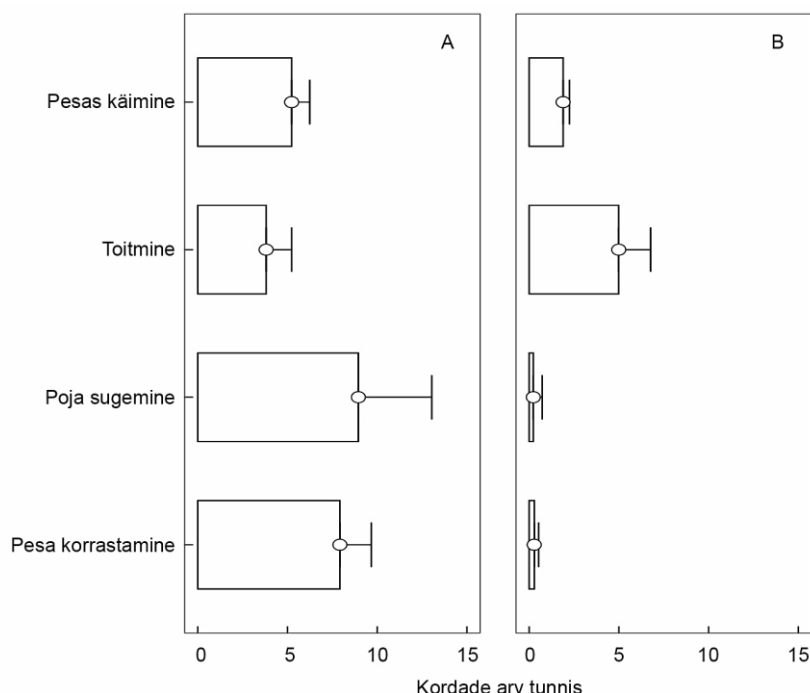
Vanalindude pesa külastussagedus ei erinenud manipulatsiooni gruppide vahel ($F_{1,23} = 0,74$; $p = 0,40$), kuid erines vanemate sugude vahel ($F_{1,24} = 70,17$; $p < 0,001$; **Joonis 3**). Emased käisid ühes tunnis pesas keskmiselt 5,23 (SE = 0,43) korda ja isased 1,87 (SE = 0,20) korda. Sugudevaheline pesakülastuste sageduse erinevus oli sarnane manipulatsiooni gruppides ($F_{1,24} = 0,02$; $p = 0,89$). Kurna suurusel oli kovariaadina oluline positiivne mõju pesa külastussagedusele ($F_{1,23} = 6,75$; $p = 0,02$).

3.1.2 Vanemhoole intensiivsus

Vanalindude üldine poegade toitmise sagedus ühes tunnis erines manipulatsiooni gruppide ($F_{1,23} = 4,35$; $p < 0,05$; **Joonis 3**), aga ei erinenud vanemate sugude vahel ($F_{1,24} = 2,38$; $p = 0,14$; **Joonis 3**). Emaste keskmine toitmissagedus oli 3,81 (SE = 0,56) korda tunnis ja isaste vastav näitaja oli 4,99 (SE = 0,66) korda. Mõlema vanema keskmine toitmissagedus kontrollgrupis oli 5,55 (SE = 0,85) korda tunnis ja vähendatud pesakondades 3,44 (SE = 0,58) korda. Ühtlasi oli emaste ja isaste vanalindude toitmissageduse erinevus sarnane manipulatsiooni gruppides ($F_{1,24} = 0,03$; $p = 0,86$). Kurna suurusel oli kovariaadina oluline positiivne mõju toitmissagedusele ($F_{1,23} = 7,21$; $p = 0,01$).

Poegade sugemise sagedus ühes tunnis ei erinenud manipulatsiooni gruppide ($F_{1,24} = 1,16$; $p = 0,29$) vahel, aga emased sugesid poegi oluliselt sagedamini kui isased ($F_{1,24} = 80,40$; $p < 0,001$). Emaste keskmine poegade sugemissagedus oli 8,95 (SE = 1,56) korda tunnis ja isaste vastav näitaja oli 0,23 (SE = 0,19; **Joonis 3**) korda. Emas- ja isaslindude sugemissageduste erinevus oli sarnane eri manipulatsiooni gruppides ($F_{1,24} = 1,02$; $p = 0,32$).

Vanemate pesakorrastamise sagedus ühes tunnis ei erinenud manipulatsiooni gruppide ($F_{1,24} = 0,15$; $p = 0,70$) vahel, aga emased korrastasid pesa oluliselt sagedamini kui isased ($F_{1,24} = 237,17$; $p < 0,001$; **Joonis 3**). Nimelt oli emaste keskmine pesa korrastamise sagedus 7,92 (SE = 0,76) korda tunnis ja isaste vastav näitaja 0,28 (SE = 0,11) korda. Emaste ja isaste vanalindude pesakorrastamise sageduste erinevus oli sarnane eri manipulatsiooni gruppides ($F_{1,24} = 0,01$; $p = 0,93$).



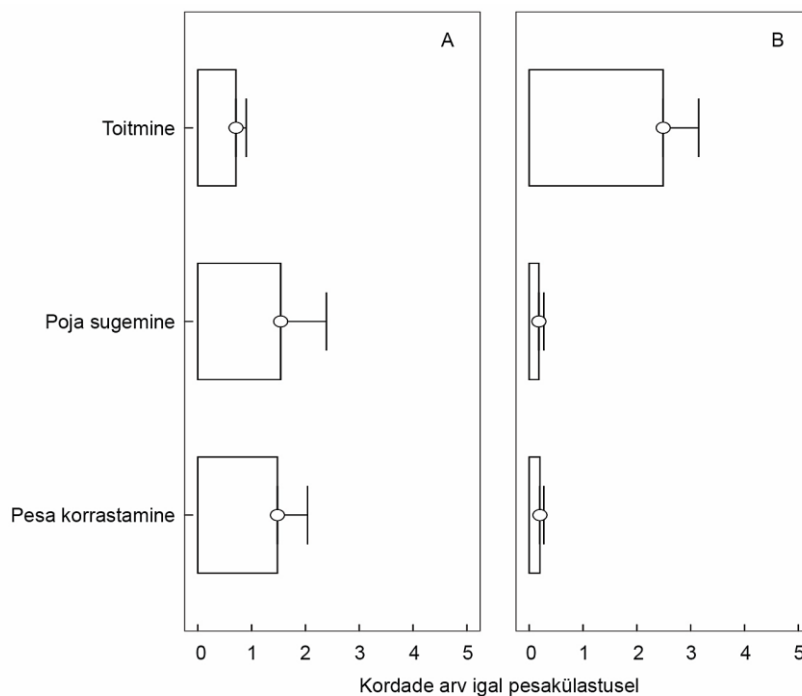
Joonis 3. Sooline erinevus vanemhoole intensiivsuses. Y-teljel on vanemliku pingutuse mõõdud, x-teljel on kordade arv keskmiselt ühe tunni jooksul. Vasakul asuv graafik (A) näitab emase vanemlikku pingutust, paremal olev graafik (B) isase oma. Veajooned tähistavad 95% usaldusintervalli. Vanemhoole intensiivsust analüüsiti log-skaalas ja transformeeriti tagasi lineaarsesse skaalasse joonise tõlgendamise huvides.

3.1.3 Vanemhoole tõhusus

Toitmispingutuse täpsemaks uurimiseks analüüsisin ka toitmise tõhusust, ehk toitmiskordade arvu iga pesas käidud korra kohta. Toitmise tõhusus erines vanalindude sugude vahel ($F_{1,24} = 58,67$; $p < 0,001$), kuid manipulatsioonil statistiliselt oluline mõju puudus ($F_{1,24} = 3,36$; $p = 0,08$). Emased toitsid poegi keskmiselt 0,71 (SE = 0,08) korda igal pesakülastusel, isased seevastu keskmiselt 2,49 (SE = 0,29; **Joonis 4**) korda. Selline sugudevaheline toitmistõhususe erisus oli sarnane mõlemas manipulatsiooni grupis ($F_{1,24} = 0,12$; $p = 0,73$).

Sarnaselt toitmispingutuse uurimisele kasutasin ka sugemiskäitumise analüüsimisel sugemise tõhusust, ehk sugemiskordade arvu igal pesa küllastamiskorral. Sugemise tõhusus erines vanalindude soo vahel ($F_{1,24} = 64,11$; $p < 0,001$), kuid manipulatsioonil statistiliselt oluline mõju puudus ($F_{1,24} = 0,89$; $p = 0,35$). Emased sugesid poegi keskmiselt 1,54 (SE = 0,34) korda igal pesaküllastusel, isased keskmiselt 0,18 (SE = 0,04; **Joonis 4**) korda. Selline sugudevaheline sugemise tõhususe erisus oli sarnane mõlemas manipulatsiooni grupis ($F_{1,24} = 0,62$; $p = 0,44$).

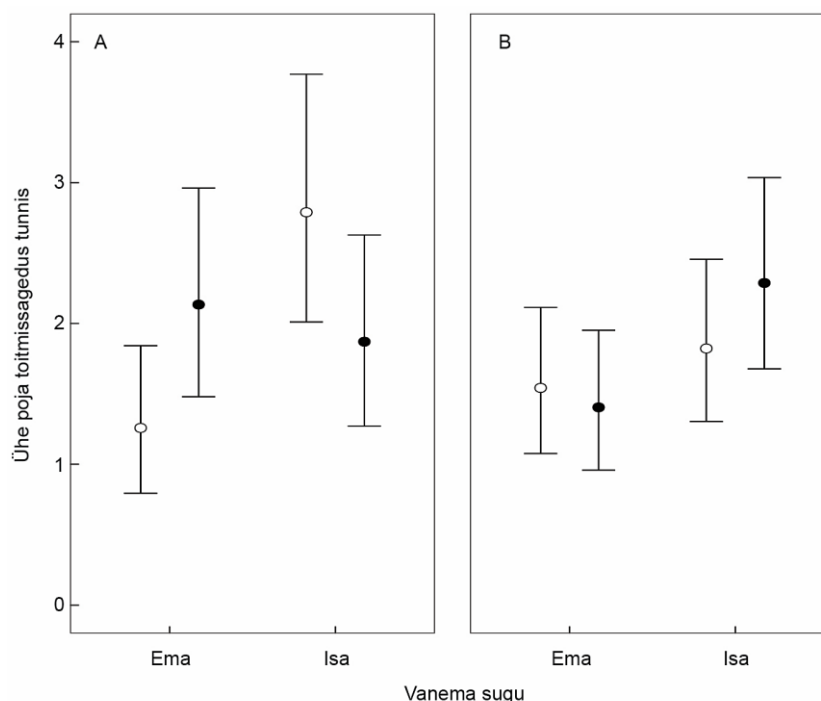
Lisaks analüüsisin pesa korrastamise tõhusust, mis näitab pesa korrastamiste kordi keskmiselt igal pesaküllastusel. Manipulatsioonil statistiline mõju puudus ($F_{1,23} = 1,29$; $p = 0,27$), kuid statistiliselt oluline erinevus tuli vanalindude sugude vahel ($F_{1,24} = 81,31$; $p < 0,001$). Emased korrastasid pesamaterjali keskmiselt 1,48 (SE = 0,25) korda igal pesaküllastusel, isased seevastu 0,20 (SE = 0,03; **Joonis 4**) korda. Sugudevaheline pesa korrastamise tõhususe erisus oli sarnane mõlemas manipulatsiooni grupis ($F_{1,24} = 0,11$; $p = 0,74$). Kurna suurusel oli kovariaadina oluline negatiivne mõju pesa korrastamise tõhususele ($F_{1,23} = 7,12$; $p = 0,01$).



Joonis 4. Sooline erinevus vanemhoole tõhususes. Y-teljel on vanemliku pingutuse mõõdud, x-teljel on kordade arv keskmiselt kõigist pesaskäikudest. Vasakul olev graafik (A) näitab emase vanemlikku pingutust, paremal olev graafik (B) isase oma. Veajooned tähistavad 95% usaldusintervalli. Vanemhoole intensiivsust analüüsiti log-skaalas ja transformeeriti tagasi lineaarsesse skaalasse joonise tõlgendamise huvides.

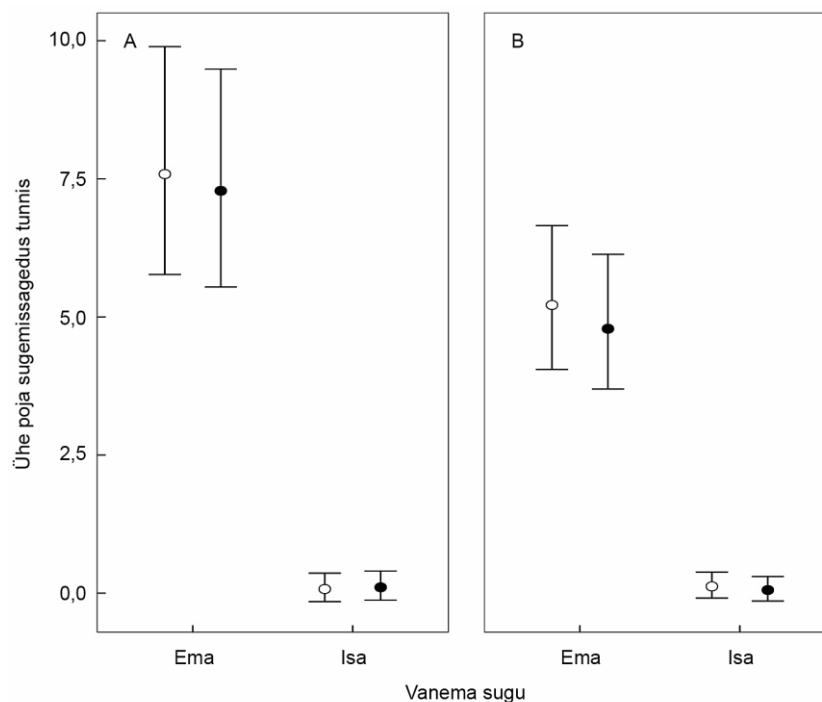
3.1.4 Individuaalse poja vanemhoole

Lisaks eelnevatele vanemhoole mudelitele analüüsisin toitmissagedust poja perspektiivist vaadates, ehk kui sageli iga individuaalne poeg toidetud sai. Tulemused näitasid, et isased toitsid iga poega sagedamini, kui emased ($F_{1, 108.98} = 13,15$; $p < 0,001$). Samas vanemate erinevus poja keskmises toitmissageduses oli erinev manipulatsiooni gruppides sõltuvalt poja soost (vanema sugu*manipulatsioon*poja sugu: $F_{1, 108.67} = 11,72$; $p < 0,001$; **Joonis 5**). Kontrollgrupi pesades toitsid mõlemad vanemad emaseid poegi sarnase sagedusega (post-hoc: $t = 0,98$; $df = 109$; $p = 0,33$), aga isad toitsid isaseid poegi sagedamini emadest (post-hoc: $t = 2,94$; $df = 109$; $p = 0,004$). Vähendatud grupi pesades toitsid mõlemad vanemad isaseid poegi sarnase sagedusega (post-hoc: $t = 0,68$; $df = 109$; $p = 0,50$), aga isad toitsid emaseid poegi sagedamini emadest (post-hoc: $t = 3,98$; $df = 109$; $p < 0,001$). Emase vanusesel oli kovariaadina oluline negatiivne mõju individuaalse poja toitmissagedusele ($F_{1, 22.51} = 10,26$; $p = 0,004$).



Joonis 5. Üksiku poja keskmine toitmissagedus. Y-teljel on poja toitmissagedus ühe tunni jooksul, x-teljel vanema sugu – emane (ema), isane (isa). Vasakul olev graafik (A) näitab toitmissagedust vähendatud grupis, paremal olev graafik (B) kontrollgrupis. Emased pojad on kujutatud valgete täppidega, isased pojad mustade täppidega. Veajooned tähistavad 95% usaldusintervalli. Vanemhoole intensiivsust analüüsiti log-skaalas ja transformeeriti tagasi linearsesse skaalasse joonise tõlgendamise huvides.

Keskmine poja sugemissagedus oli oluliselt suurem emadel kui isastel ($F_{1, 109.53} = 814,76$; $p < 0,001$), kuid manipulatsiooni gruppide vahel sugemiskäitumise erinevust ei olnud ($F_{1, 21.86} = 2,88$; $p = 0,10$). Samas käitusid vanemad eri manipulatsiooni gruppides erinevalt ($F_{1, 109.53} = 6,65$; $p = 0,01$; **Joonis 6**). Kontrollgrupis sugesid emad poegi isadest sagedamini (log-skaalas vanemate erinevus 1,71 (SE = 0,08)), vähendatud grupi pesades jäi isade sugemissagedus sarnaseks, kuid emade sugemisaktiivsus tõusis (log-skaalas vanemate erinevus 2,05 (SE = 0,10)). Oluline on märkida, et äsja kirjeldatud kahe faktori koosmõju oli sarnane mõlema poja soo korral (vanema sugu*manipulatsioon*poja sugu: $F_{1, 109.53} = 0,04$; $p = 0,84$).

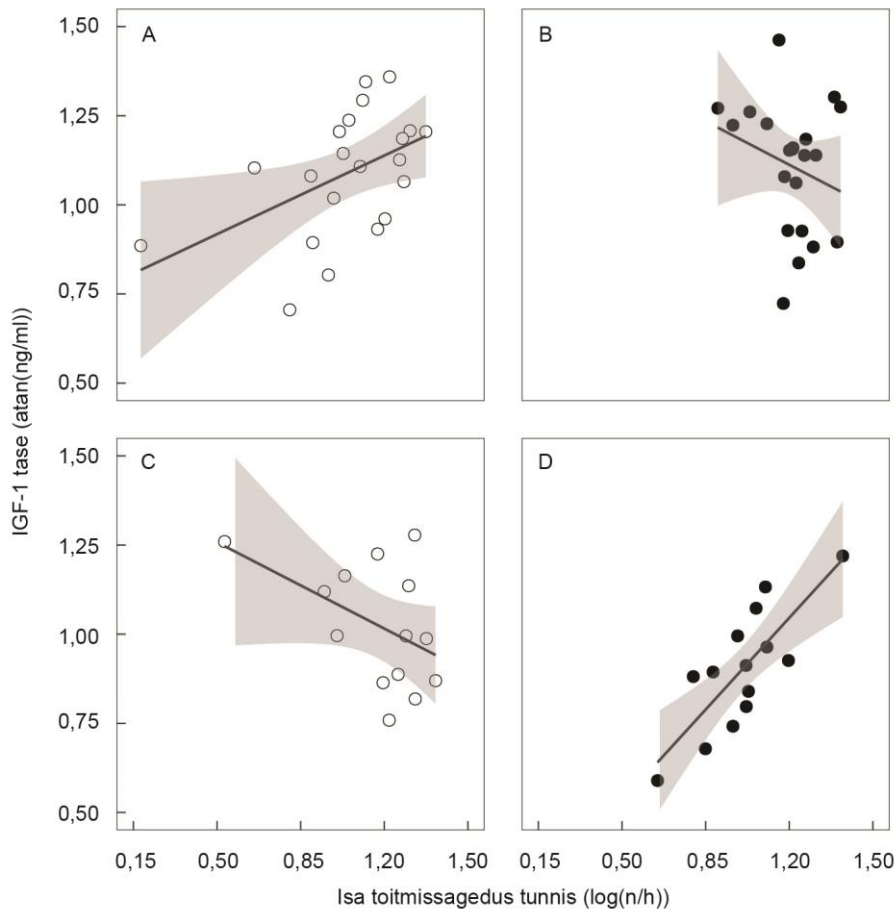


Joonis 6. Üksiku poja keskmine sugemissagedus. Y-teljel on sugemissagedus ühe tunni jooksul, x-teljel vanema sugu – emane (ema), isane (isa). Vasakul olev graafik (A) näitab sugemissagedust vähendatud grupis, paremal olev graafik (B) kontrollgrupis. Emased pojad on kujutatud valgete täppidega, isased pojad mustade täppidega. Veajooned tähistavad 95% usaldusintervalli. Vanemhoole intensiivsust analüüsiti log-skaalas ja transformeeriti tagasi lineaarsesse skaalasse joonise tõlgendamise huvides.

3.2 IGF-1 taseme seos toitumisega

Poegade IGF-1 taseme sõltuvuse uurimiseks vanemlikust toitmispingutusest analüüsisin emas- ja isaslinde eraldi. Poegade IGF-1 taseme seos isase toitmissagedusega sõltus poegade manipulatsiooni grupist ja soost (isase toitmissagedus * manipulatsioon * poja sugu: $F_{1,60.94} = 8,90$; $p = 0,004$; **Joonis 7**). Vaadeldes enne kontrollgrupi poegi, oli emaste poegade

IGF-1 tase positiivses seoses nende isa toitmissagedusega ($t = 2,39$; $p = 0,03$; $\beta = 0,48$ (SE = 0,13)), seevastu isaste poegade puhul oli antud seos mitteoluline ($t = 1,12$; $p = 0,28$; $\beta = -0,25$ (SE = 0,31)). Vähendatud pesakondades kasvanud poegade korral oli emaste poegade IGF-1 tase statistiliselt mitteolulises seoses isa toitmissagedusega ($t = 1,82$; $p = 0,09$; $\beta = -0,47$ (SE = 0,19)). Seevastu isaste poegade puhul oli IGF-1 tase positiivses seoses isa toitmissagedusega ($t = 4,49$; $p < 0,001$; $\beta = 0,79$ (SE = 0,16)). Ülalkirjeldatud seost ei tuvastatud, kui uuriti emalindude suhtelist toitmissagedust (emase toitmissagedus * manipulatsioon * poja sugu: $F_{1,56,88} = 0,05$; $p = 0,82$).



Joonis 7. IGF-1 taseme seos isase toitmissagedusega manipulatsiooni gruppides. Ülemised graafikud (A, B) kujutavad IGF-1 taseme seost toitmisega kontrollgrupis, alumised graafikud vähendatud grupis (C, D). Vasakpoolsed graafikud (A ja C, valged täpid) kujutab emaste poegade IGF-1 taseme seost isase toitmispingutusega, parempoolsed (B ja D, mustad täpid) isaste poegade oma. Y-teljel on poegade IGF-1 tase atan(ng/ml), x-teljel isalinnu toitmissagedus ühe tunni jooksul. Hall ala graafikutel kujutab 95% usaldusintervalli.

4. Arutelu

4.1 Vanemliku pingutuse intensiivsus ja tõhusus

Hakid moodustavad pikaajalisi monogaamseid paare ning poegade kasvatamisel on vanemate rollid erinevad (Kubitza, et al., 2014). Rollide jaotus määrab suuresti pesitsusedukuse ning ühe vanema eemaldamisel võib pesakond hukkuda (Röell, 1978). Antud töös kombineerisin eksperimentaalse varieeruvuse (pesakonna suuruse manipulatsioon) loodusliku varieeruvusega (filmimine), et analüüsida hakkide vanemhoole varieeruvust ja selle seost poegade kasvu ja arengut mõjutava hormooni – IGF-1 tasemega. Tulemused näitasid vanema perspektiivist, et poegade vähendamise manipulatsiooniga vähenes marginaalselt ka vanemate üldine toitmissagedus. Samas olid kõik teised vanemhoole pingutuse mõõdnud manipulatsiooni gruppide vahel sarnased. Siiski esinesid vanalinnu sugude vahel kontrastsed käitumuslikud erisused.

Kõigepealt analüüsisin vanemliku pingutuse mõõdnuna vanemate pesas viibimist ja pesaküllastuste arvu. Emaslinnud olid rohkem aega pesas ja külastasid pesa tihedamini kui isaslinnud – see illustreerib hakkide soorollide reljeefset jaotust, mida on maininud mitmed teadustööd (Henderson & Hart, 1993; Röell, 1978; Kubitza, et al., 2014). Emaste pikem pesas viibimise aeg on tingitud isaste rollist pesakonna toitmisel ning lisaks pesa kaitsmisest, mis vähendab poegade kisklusriski eriti just nende varases vanuses (Röell, 1978; Røskaft, 1983). Emaslindude tihedam pesakastis käimine on arvatavasti seotud toidu otsimisega pesakasti lähedusest, mis võimaldab samaaegselt ka pesa valvata. Isaslindude harvem pesaküllastamine võib olla põhjustatud kaugematest ning pikematest toiduotsingutest, mis võimaldavad poegadele tuua kvaliteetsemat toitu. Manipulatsiooni mõju puudumist võib seletada hakkide loodusliku pesakonna arvukuse varieeruvusega, mistõttu manipulatsioonil polnud piisavalt tugevat mõju (Röell, 1978). Lisaks võib manipulatsiooni mõju puudumist seletada toidu saadavusega, sest kehvade toiduolude korral on poegade toitmine ajakulukam, sest vanemad peavad toiduotsinguteks pesast tihedamini lahkuma ja kauem eemal viibima (Low, et al., 2012). Võib eeldada, et toidu saadavus polnud manipulatsiooni sooritamise aastal limiteeriv faktor, sest manipulatsiooni gruppide vahelist erinevust ma oma tulemuste põhjal ei leidnud. Soorollide olulisusele vaatamata leidub vähe artikleid, mis keskenduksid emase vanemliku pingutuse uurimisele ja selle hinnale. Tulevikus tasuks üle aastate uurida toidu saadavuse mõju nii emas- ja isaslinnu pesas viibimise ajale sõltuvalt pesakonna suurusest.

Poegade kasv ja areng ning sealhulgas kasvamiseks oluliste hormoonide tasemed (glükokortikoidid, IGF-1) sõltuvad tarbitud toidu hulgast, mistõttu uurisin toitmispingutuse varieeruvust manipulatsiooni gruppides ja vanalindude sugude vahel (Dantzer & Swanson, 2012). Toitmispingutuse täpsemaks uurimiseks analüüsisin nii toitmissagedust ja toitmise tõhusust ning selgus, et manipulatsioonil ei olnud statistiliselt olulist mõju toitmise tõhususele. Toitmise tõhususe sarnasust manipulatsiooni gruppide vahel võib seletada hakkide loodusliku pesakonna arvukuse varieeruvusega ning vanemliku hoole piirangutega suurte pesakondade puhul (Röell, 1978; Kaminski, et al., 2015). Statistiliselt oluline erinevus manipulatsiooni gruppide vahel oli aga toitmissageduses, kus kontrollgrupis oli poegade toitmine sagedasem võrreldes vähendatud grupiga. Kuna kontrollgrupis on poegade arv suurem, siis lähtuvalt sellest on ka toitmiskordade arv suurem ning vastupidiselt vähendatud grupis. Suurem pesakond põhjustab muutusi vanemate toitmisstrateegias, kus poegade suurem nõudlus toidu osas sunnib vanemaid rohkem pingutama ning vanemad on vähem valivad toidu kvaliteedi osas (García-Navas & Sanz, 2010).

Toitmiskordade arv ei erinenud isas- ja emaslindude vahel, kuid toitmise tõhusus oli suurem isastel. Erinevalt teistest artiklitest ei toetanud minu tulemused teadmisi soorollide jaotusest toitmispingutuse osas, kus isaslind hoolitseb peamiselt pesakonna ja ka emase toitmise eest (Henderson & Hart, 1993; Röell, 1978; Kubitza, et al., 2014). Tulemuste erinevus võib olla tingitud headest toitumisvõimalustest või madalast kisklusriskist, mis võimaldab emastel sagedamini pesast lahkuda (Røskaft, 1983). Sooline erinevus toitmise tõhususe kattub varasemate teadmistega soorollide jaotusest pesakonna kasvatamisel, kus isaslinnu ülesandeks on pesapoegade toitmine (Henderson & Hart, 1993). Erinevust isaste toitmiskordade arvu ja toitmise tõhususe vahel põhjustab ilmselt emaste suurem osalus poegade toitmisel. Videomaterjali analüüsimisel oli näha, et esines ka selliseid olukordi, kus emaslind jagas talle toodud toidu poegadele. Selline käitumine võis põhjustada erinevust vanalindude toitmiskordade arvus. Kuna emased viibisid suurema osa ajast pesas, siis enda toidust loobumine võib viidata ümbritseva keskkonna toidurohkusele, mis võimaldab isaslinnul täita lisaks poegadele ka emase toiduvajadused. Samas oli emaste pesa küllastamiste arv suurem, mis võib viidata sellele, et emased tegid lühiajalisi toiduotsimise retki pesa läheduses. Suurem pesa küllastamiste arv võib olla aga seotud ka pesa korrastamisega ja väljaheidete eemaldamisega. Toitmispingutuse tulemuste erinevus vanalindude vahel vajab täpsemat analüüsi, et määrata emaste suurema toitmiskordade arvu põhjus.

Vanemlike mõõtudena kaasasin analüüsi ka sugemiskäitumise ja pesa korrastamise, mis aitab hinnata vanemlikku pingutust ja soorollide jaotust. Hakid pesitsevad õõnsustes, kus leidub erinevaid parasiite ning pidev pesa korrastamine ja poegade sugemine on nende eemaldamiseks vajalik (Bush & Clayton, 2018; Röell, 1978). Parasiitide eemaldamine on oluline poja kasvukiiruse ja ellujäämise seisukohast (Bush & Clayton, 2018; Cantarero, et al., 2013). Tulemustest selgus, et poegade arvu vähendamine pesakonnas ei mõjutanud pesa korrastamise ja poegade sugemise sagedust ega tõhusust. Pesa korrastamise ja poegade sugemisega tegelevad peamiselt emaslinnud ning sugemiste ja korrastamiste arv ning tõhusus olid suuremad kui isastel. Tulemus on kooskõlas varasemate teadmistega hakkide soorollidest poegade kasvatamisel (Henderson & Hart, 1993; Röell, 1978; Kubitza, et al., 2014). Pesa korrastamisel ja selle kaudu parasiitide vähendamisel on oluline mõju ka emaslinnule, kuna pesas viibimise aeg on pikk (Henderson & Hart, 1995). Pesa korrastamine ja väljaheidete eemaldamine on ilmselt põhjus, miks emaste pesakülastuste arv oli suurem isaste omast. Manipulatsiooni mõju puudumine on ilmselt tingitud hakkide pesakonna suuruse looduslikust varieeruvusest ning vanemliku hoole piirangutest suurte pesakondade puhul (Röell, 1978; Kaminski, et al., 2015). Suurte pesakondade puhul vanemlik pingutus kasvab, pesapoegade konkurents suureneb ning iga üksik poeg saab vähem vanemlikku hoolt (Kaminski, et al., 2015; Trivers, 1974). Tulevikus võiks uurida pesa parasiitide seost poegade kasvukiirusega, täpsemalt IGF-1 tasemega, kuna ektoparasiidid vähendavad poegade toitainete ja energia ressursse ning põhjustavad stressihormoonide suurenemist (Cantarero, et al., 2013). Paljud artiklid kajastavad vanalindude enda või omavahelist sugemist ning selle mõju paarumuse tugevuse säilitamisel, mistõttu tasuks uurida ka poegade sugemisingutust emaslinnu seisukohast.

4.2 Individuaalse poja vanemhoole

Vanemliku pingutuse uurimiseks kasutasin vanalindude kahte peamist otseselt poegadega seotud hoolitsuskäitumist –toitmist ja sugemist. Hakkidel esineb sooline erinevus suurusel: emased on isastest väiksemad, mistõttu emaste poegade energiavajadus pole nii suur (Lack, 1954). Tulemustest selgus, et isaslindude toitmissagedus on suurem kui emaslindudel ning isa toidab poegi erinevalt sõltuvalt manipulatsiooni grupist ja poja soost. Isaslindude suurem toitmissagedus võrreldes emaslindudega kinnitab varasemaid teadmisi vanemlike soorollide jaotusest hakkidel (Röell, 1978; Henderson & Hart, 1993; Kubitza, et al., 2014). Võrreldes eelmise toitmispingutuse mudeliga võimaldab poja soo kaasamine mudelisse analüüsida

toitmispingutust detailsemalt poja seisukohast, ehk kui palju vanem iga poja toitmiseks pingutas. Isad, kes on peamised pesakonna toitjad, toitsid kontrollgrupis rohkem isaseid poegi võrreldes emaste poegadega. Isaste poegade toitmine on olulisem nende suurema energiavajaduse tõttu võrreldes emaste poegadega (Lack, 1954; Espíndola-Hernández, et al., 2017). Vähendatud poegadega grupis toitis isa emaseid poegi rohkem võrreldes isaste poegadega. Emaste poegade energiakulu on madalam, mistõttu isa toitmispingutuse määr on madalam, mis võimaldab tal endal paremini toituda ja enda eest hoolitseda (nt sugemine), vähendades sellega enda paljunemise hinda (Bebbington & Hatchwell, 2015; Lack, 1968). Võimalik, et toitmispingutuse vähenemisel on isal rohkem energiat ja aega, et panustada muudesse vanemhoolega seotud tegevustesse, näiteks pesa ja territooriumi kaitsmisesse (Röell, 1978). Emapoolne toitmissagedus on kontrollgrupis sarnane sõltumata poegade soost, kuid vähendatud poegadega grupis suurenes isaste poegade toitmine. Isaste poegade suurenenud toitmise aktiivsus ei tulnud küll statistiliselt oluliseks, kuid võib viidata trendile, mille puhul emane suurendab kulukamast soost poegade, ehk isaste poegade toitmist isa vähenenud toitmispingutuse tõttu (Lack, 1954; Espíndola-Hernández, et al., 2017). Selle trendi täpsemaks uurimiseks tuleks sarnast analüüsi korrata suurema valimi korral ning läbi mitme aasta, mis võimaldab paremini selgitada, kuidas ja millisel määral vanemad oma toitmissagedust korrigeerivad sõltuvalt toidu saadavusest. Sarnaselt minu magistritöö tulemustele on paljud tööd näidanud soolise dimorfismi ja energiavajaduse seost, kus suurem sugupool vajab kiire metabolismi ja kasvu tõttu rohkem süüa (Anderson, et al., 1993; Espíndola-Hernández, et al., 2017). Kuid leidub vähe artikleid, mis käsitlevad poegade kasvatamisel vanemliku pingutuse soolisi erinevusi, elukäiguomaduste lõivsuhteid ning poegade arvukuse manipulatsiooni. Low et al. (2012) leidis, et erinevalt emastest suurendasid isased hihid (*Notiomystis cincta*) oma toitmispingutust seoses pesakonna suuruse ja vanuse suurenemisega. Lisaks näitas Ardia (2007), et emased ja isased õõnepääsukesed (*Tachycineta bicolor*) suurendasid toitmiskiivsust poegade arvu suurenemisel, kuid poegade arvu vähenemisel isaste pääsukeste toitmispingutus vähenes võrreldes emastega märgatavalt. Pole kindel, kas isaste vähenenud toitmispingutus vähendatud poegadega pesakastides tulenes emase toitmispingutuse muutusest või vastupidi (Ardia, 2007). Teadustööde puudus, millega seletada vanalindude toitmispingutuse muutust vähendatud poegadega grupis, viitab vajadusele uurida rohkem toitmispingutust ühe poja arvestuses sõltuvust pesakonna suurusest, vanemate soorollidest ning toidurohkusest.

Olulise vanemliku pingutuse mõõduna kasutasin ka sugemispingutust ühe poja arvestuses. Tulemustest selgus, et emaste sugemise aktiivsus on oluliselt suurem kui isaslindudel ning

emaste suhteline sugemispingutus oli vähendatud grupis suurem kui kontrollgrupis. See kinnitab varasemaid teadmisi vanemlike soorollide jaotusest hakkidel ning on tugevalt seotud emaslindude pikema pesas viibimise ajaga (Röell, 1978; Henderson & Hart, 1993; Kubitza, et al., 2014). Vähendatud grupis on poegade arv madalam, mis võimaldab emal iga poja eest rohkem hoolitseda. Poegade sugemine on oluline parasiitide eemaldamiseks, mis aitab suurendada poegade kehamassi ja lennuvõimestumise tõenäosust (Cantarero, et al., 2013). Leidub palju artikleid, mis käsitlevad emaste suurenenud vanemliku pingutuse ja ektoparasiitide rohkuse seost, kuid puudub informatsioon, kuidas ühe poja sugemise aktiivsus muutub pesakonna suuruse manipulatsiooniga (Cantarero, et al., 2013; Bush & Clayton, 2018).

4.3 Poegade IGF-1 seos toitmispingutusega

IGF-1 tase sõltub tarbitud toidu hulgast ja kvaliteedist ning reageerib neile kiiresti, mistõttu toidu puuduse ajal IGF-1 tase veres ja kudedes langeb (Dantzer & Swanson, 2012). Analüüsisin poegade IGF-1 taseme seost vanemliku toitmispingutusega millest selgus, et poegade IGF-1 taseme sõltuvus isaslinnu suhtelise toitmispingutusest erines manipulatsiooni ja poja soo erinevatel tasemetel. Kontrollgrupis oli emaste poegade IGF-1 tase positiivses seoses isa toitmissagedusega, isastel poegadel oli seos aga negatiivne. Vähendatud grupis oli suhe vastupidine ning esines statistiliselt oluline erinevus isaste ja emaste poegade vahel, kus emaste poegade IGF-1 tase oli negatiivselt korreleerunud isa toitmispingutusega, isastel poegadel positiivselt.

Isa toitmispingutus erines manipulatsiooni gruppides ja poja sugude vahel, mida näitas ka poja individuaalse toitmissageduse mudel. Erinev toitmispingutus põhjustas erinevusi poegade IGF-1 tasemes manipulatsiooni gruppide vahel. Isad toitsid isaseid poegi emastest rohkem. Koos ema stabiilse isaste poegade toitmissagedusega võib oletada, et keskmiselt oli isastel poegadel piisavalt toitu ja isegi raskema soona ei olnud toitainete puudus kasvu limiteerivaks teguriks. Viimase indikatiivseks väljundiks on isaste poegade IGF-1 taseme seose puudumine isa toitmissagedusega. Emaste poegade IGF-1 tase sõltus positiivselt isade toitmissagedusest. Kontrollgrupis oli emaste poegade toitmissagedus primaarse toitja, ehk isa poolt madalam kui isaste poega toitmissagedus. Arvestades seda, et emaste poegade energiavajadus on nende väiksuse tõttu madalam, paistsid emased pojad olema toitainete osas oluliselt limiteeritud (Anderson, et al., 1993; Espíndola-Hernández, et al., 2017). Sellistes limiteerituse tingimustes oli isa toitmissageduse tõus seotud emaste poegade IGF-

1 taseme tõusuga, mis tähendab, et nad olid võimelised energiat investeerima suuremal määral just kasvu ja arengusse. Vähendatud grupis toitsid isad emaseid poegi rohkem isastest poegadest. Koos ema stabiilse emaste poegade toitmissagedusega võib oletada, et keskmiselt oli emastel poegadel piisavalt toitu ja toitainete puudus ei olnud kasvu limiteerivaks teguriks. Viimase indikaatoriks väljundiks on emaste poegade IGF-1 taseme seose puudumine isa toitmissagedusega. Huvitavalt sõltus nüüd isaste poegade IGF-1 tase positiivselt isade toitmissagedusest. Vähendatud grupis oli isaste poegade toitmissagedus primaarse toitja, ehk isa poolt väiksem võrreldes emaste poegadega. Arvestades seda, et isaste poegade energiavajadus on nende suuruse tõttu suurem, paistsid isased pojad olema oluliselt limiteeritud toitainete osas (Anderson, et al., 1993; Espíndola-Hernández, et al., 2017). Sellistes limiteerituse tingimustes oli isa toitmissageduse tõus seotud isaste poegade IGF-1 taseme tõusuga, mis tähendab, et nad olid võimelised energiat suuremal määral investeerima just kasvu ja arengusse.

Leidub vähe artikleid, mis kirjeldavad vabaltelavate lindude IGF-1 taseme regulatsiooni sünnijärgses arengus sõltuvalt pesakonna suurusest, poja soost ning vanemlikust pingutusest. Siiski leidub artikleid, mis on näidanud IGF-1 positiivset seost poegade vähendamise manipulatsiooniga. Mida väiksem on pesapoegade arv, seda suurem on vanemlik pingutus ühe poja kohta. Suurem vanemlik pingutus põhjustab poegade parema toitumuse ja madalama stressitaseme, mis soodustab kõrgemat IGF-1 taset (Lodjak, et al., 2016; 2013; Ridenour, et al., 2023). Minu tulemused sellist seost ei toetanud ning põhjuseks on ilmselt isase toitmispingutuse erinevus manipulatsiooni gruppides. Põhjus võib seisneda ka madalama kvaliteediga toiduobjektides või keskkonnaoludes, mis valitsesid manipulatsiooni sooritamise aastal.

Sarnaselt isase toitmispingutuse mõjule analüüsisin poegade IGF-1 taseme seost emase toitmispingutusega. Emaste suhtelise toitmispingutuse ja poegade IGF-1 vahelist seost ma oma andmete põhjal tuvastada ei saanud. Seose puudumise põhjuseks võib olla hakkide soorollide jaotus, kus erinevalt isast pole ema peamine poegade toitja ning emase ülesanneteks on hoopis poegade sugemine ja pesa puhastamine (Henderson & Hart, 1993). Tulevikus tasuks uurida kuidas emasele omane vanemlik pingutus on seotud poegade IGF-1 tasemega. Näiteks uurida kas ja mis määral emale omased vanemlikud hoolitsused mõjutavad poegade stressi taset läbi glükokortikoidide taseme ning sellest lähtuvalt IGF-1 taset (Ross & Buchanan, 1990).

5. Kokkuvõte

Magistritöös uurin vanemhoole mõju hakkidel (*Corvus monedula*), kes moodustavad monogaamseid paare ning pesakonna lennuvõimestumisel on mõlemal vanemal täita oluline roll. Emaslind viibib tavaliselt rohkem aega pesas ning vastutab poegade sugemise ja pesa korrastamise eest, isaslind aga poegade toitmise eest. Vanemhoole ja poegade kasvamise vahelise seose mõõtmiseks saab kasutada insuliinlaadset kasvufaktorit 1 (IGF-1), millel on oluline roll poegade arengus. IGF-1 tase sõltub tarbitud toidu hulgast ja kvaliteedist, mistõttu toidu puuduse ajal IGF-1 tase veres ja kudedes langeb. Kehv toitumus varases eluetapis mõjutab tugevalt IGF-1 sünteesi, mis omakorda põhjustab poegade aeglasema kasvu, väiksema kehamassi ning suurema koorumisjärgse suremuse.

Magistritöös soovin teada, milline on vanemliku pingutuse sooline erinevus manipulatsiooni gruppides lähtuvalt vanema seisukohast: kuidas erines pesas viibimine, sugemine, pesa korrastamine ja toitmine. Kas vanemlik pingutus poja kohta erineb vanalindude soo ja manipulatsiooni gruppide vahel ning kuidas on poegade IGF-1 tase seotud vanemate erineva toitmispingutusega. Eelnevatele küsimustele vastamiseks manipuleeriti poegade arvu pesakonnas, moodustus kontrollgrupp ning vähendatud poegade arvuga grupp. Katse valimi moodustas 26 pesakasti, mida filmiti ning vanemhoolt mõõdeti käitumuslike tunnuste alusel. Peale filmimist koguti poegadelt vereproovid, millest eraldati plasma ja mõõdeti bioloogiliselt aktiivne IGF-1 tase. Andmeanalüüs jagunes kaheks osaks, kus kasutasin mudelite koostamisel erinevaid andmestikke, et saada eraldi tulemusi nii vanalindude kui ka poegade kohta.

Analüüsid vanemliku pingutuse soolist erinevust selgus, et tulemused vastasid suuresti hakkide soorollide jaotusele, mille puhul emaslinnud viibivad pesas kauem, sugevad poegi ja korrastavad pesa intensiivsemalt ja tõhusamalt kui isaslinnud. Lähtuvalt kirjandusest peaks isaste toitmispingutus olema suurem emaste omast, kuid minu tulemused seda väidet ei toetanud. Isaste toitmise tõhusus oli küll suurem emaste omast, kuid toitmiskordades sugudevahelist erinevust ei olnud. Poegade vähendamise manipulatsioonil ei olnud minu vanemliku pingutuse tulemustele enamasti olulist mõju ning seda võib seletada hakkide loodusliku pesakonna suuruse varieeruvusega, mistõttu manipulatsioonil polnud piisavalt tugevat mõju.

Poja seisukohast lähtuva vanemliku pingutuse uurimiseks kasutasin sugemis- ja toitmispingutust ühe poja arvestuses. Tulemustest selgus, et isaslindude toitmissagedus on suurem kui emaslindudel ning isad toidavad vähendatud grupis rohkem emaseid poegi ning kontrollgrupis rohkem isaseid poegi. Võimalik, et toitmispingutuse vähenemisel on isal rohkem energiat ja aega, et panustada muudesse vanemhoolega seotud tegevustesse, näiteks pesa ja territooriumi kaitsmisesse. Sugemispingutuse tulemustest selgus, et emaste sugemise aktiivsus on oluliselt suurem kui isaslindudel ning emade suhteline sugemispingutus oli vähendatud grupis suurem kui kontrollgrupis.

IGF-1 tase sõltub tarbitud toidu hulgast, mistõttu analüüsisin poegade IGF-1 taseme sõltuvust eraldi emase ja isase toitmispingutusest. Tulemustest selgus, et poegade IGF-1 tase on tugevalt seotud isase toitmispingutusega, toitmissageduse muutusega vähendatud grupis muutus ka poegade IGF-1 tase. Kontrollgrupis toitis isa emaseid poegi vähem, mistõttu oli nende IGF-1 tase positiivselt seotud toitmispingutusega. Vähendatud grupis isa sooline toitmiseelistus muutus ning isaste poegade toitmissagedus oli madalam, mistõttu nende IGF-1 tase oli positiivselt seotud isase toitmispingutusega. Emaste suhtelise toitmispingutuse ja poegade IGF-1 vahelist seost ma oma andmete põhjal ei leidnud.

Summary

In my master's thesis, I examine the influence of parental care on Eurasian jackdaws (*Corvus monedula*), which form monogamous pairs, and both parents play an important role in the fledgling's development. The female bird typically spends more time in the nest and is responsible for grooming chicks and cleaning the nest, while the male bird takes care of feeding the chicks. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) can be used to measure the relationship between parental care and chick growth. IGF-1 plays a crucial role in the development of the offspring and its levels depend on the quantity and quality of food consumed. During food scarcity, IGF-1 levels in the blood and tissues decrease. Poor nutrition in the early stages of life strongly affects IGF-1 synthesis, which in turn leads to slower growth, lower body mass, and higher post-hatching mortality in chicks.

In this master's thesis, I aim to determine the sex differences in parental effort in manipulation groups based on parents' perspectives. I investigate variations in nest attendance, grooming, nest maintenance, and feeding. I also explore whether parental effort differs between male and female adult birds and among manipulation groups, and how chicks' IGF-1 level is related to the parents' varying feeding effort. To address these questions, I manipulated the number of chicks in the nest and formed a control group and a group with a reduced number of chicks. The experiment consisted of 26 nest boxes, which were filmed, and parental care was measured based on behavioral traits. After filming, blood samples were collected from the chicks to extract plasma and measure biologically active IGF-1. The data analysis was divided into two parts, using different datasets to get results for both adult birds and chicks.

Analyzing the sex differences in parental effort, I found that the results largely corresponded to the sex roles observed in Jackdaws. Female birds spent more time in the nest, groomed chicks, and cleaned the nest more intensively and efficiently than male birds. According to the literature, male feeding effort should be greater than females, but my results did not support this claim. Although the feeding efficiency of males was higher than that of females, there was no significant difference in the number of feedings between sex. Brood reduction did not have a significant impact on the results of my parental effort analysis, which can be caused by natural variability in jackdaw brood size, where the manipulation did not exert a strong enough influence.

To investigate parental effort from the perspective of the nestling, I analyzed grooming and feeding effort per individual chick. The results revealed that male birds had a higher feeding frequency compared to female birds. In the reduced group, males fed more female chicks, while in the control group, they fed more male chicks. It is possible that with a reduced feeding effort, males have more energy and time to allocate to other parental care activities, such as nest and territory defense. In terms of grooming effort per chick, female birds displayed significantly higher activity than males, and female grooming effort was higher in the reduced group compared to the control group.

Since the IGF-1 level is dependent on the quantity of food consumed, I analyzed the dependence of the chicks' IGF-1 level on the feeding effort of both parents separately. The results showed a strong association between the chicks' IGF-1 level and male feeding effort. Changes in male feeding frequency in the reduced group were also accompanied by changes in the chicks' IGF-1 levels. In the control group, males fed fewer female chicks, and therefore their IGF-1 level was positively correlated with feeding effort. In the reduced group, the male's feeding preference shifted, resulting in a lower feeding frequency for male chicks causing a positive correlation between IGF-1 level and male feeding effort. Based on my data, I did not find a significant correlation between the relative feeding effort of females and the chicks' IGF-1 levels.

Tänuavaldus

Sooviksin tänada oma suurepäraseid juhendajaid Jaanis Lodjakut ja Marko Mägi, kes oma toetava hoiaku ja nõuannetega oli suureks abiks magistritöö valmimisel ning kelle suunamised ja parandused aitasid tööd paremaks kujundada.

Samuti sooviksin tänada Aivar-Erik Pärnat keelelise nõu eest ning kasulike nippide eest statistikaprogrammis R.

Kasutatud kirjandus

- Allard, J. & Duan, C., 2018. IGF-binding proteins: Why do they exist and why are there so many?. *Frontiers in Endocrinology*, Kõide 9.
- Anderson, D. J. et al., 1993. Sexual size dimorphism and food requirements of nestling birds. *Canadian Journal of Zoology*, 71(12).
- Ardia, D., 2007. Site- and sex-level differences in adult feeding behaviour and its consequences to offspring quality in Tree Swallows (*Tachycineta bicolor*) following brood-size manipulation. *Can J Zool*, Kõide 85, p. 847–854.
- Arnold, K. E. & Griffiths, R., 2003. Sex-specific hatching order, growth rates and fledging success in jackdaws *Corvus monedula*. *Journal of Avian Biology*, 34(3), pp. 275-281.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker, S., 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48.
- Bebbington, K. & Hatchwell, B. J., 2015. Coordinated parental provisioning is related to feeding rate and reproductive success in a songbird. *Behavioral Ecology*, 27(2), p. 652–659.
- Boonekamp, J. J., Bauch, C., Mulder, E. & Verhulst, S., 2017. Does oxidative stress shorten telomeres?. *Biology letters*, 13(5).
- Breheny, P. & Burchett, W., 2017. Visualization of Regression Models Using visreg. *The R Journal*, pp. 9: 56-71.
- Bunti, J. D., 1996. Neural and Hormonal Control of Parental Behavior. *Advances in the study of behaviour*, Issue 25, pp. 161-213.
- Bush, S. E. & Clayton, D. H., 2018. Anti-parasite behaviour of birds. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 373(1751).
- Cantarero, A., López-Arrabé, J., Redondo, A. J. & Moreno, J., 2013. Behavioural responses to ectoparasites in pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*: an experimental study. *Journal of Avian Biology*, 44(6), pp. 591-599.
- Cockburn, A., 2006. Prevalence of different modes of parental care in birds.. *Proceedings of the Royal Society B*, Kõide 273, p. 1375–1383.
- Dantzer, B. & Swanson, E. M., 2012. Mediation of vertebrate life histories via insulin-like growth factor-1. *Biological reviews*, 87(2), pp. 414-429.
- Dial, P. K., 2003. Evolution of Avian Locomotion: Correlates of Flight Style, Locomotor Modules, Nesting Biology, Body Size, Development, and the Origin of Flapping Flight. *The Auk*, Kõide 120, pp. 941-952.
- Espíndola-Hernández, P., Castaño-Villa, G. J., Vásquez, R. A. & Quirici, V., 2017. Sex-specific provisioning of nutritious food items in relation to brood sex ratios in a non-dimorphic bird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 71(65).

- Fox, J. & Weisberg, S., 2019. *_An R Companion to Applied Regression_*, Third edition. Sage, Thousand Oaks.
- García-Navas, V. & Sanz, J., 2010. Flexibility in the Foraging Behavior of Blue Tits in Response to Short-Term Manipulations of Brood Size. *Ethology*, 116(8), pp. 744-754.
- Gibbons, D. W., 1987. Hatching Asynchrony Reduces Parental Investment in the Jackdaw. *Journal of Animal Ecology*, 56(2), pp. 403-414 .
- Hasselquist, D. & Kempenaers, B., 2002. Parental care and adaptive brood sex ratio manipulation in birds. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, Köide 357, p. 363–372.
- Henderson, I. G. & Hart, P. J. B., 1993. Provisioning, Parental Investment and Reproductive Success in Jackdaws *Corvus monedula*. *Ornis Scandinavica (Scandinavian Journal of Ornithology)*, 24(2), pp. 142-148.
- Henderson, I. G. & Hart, P. I. J. B., 1995. Dominance, Food Acquisition and Reproductive Success in a Monogamous Passerine: The Jackdaw *Corvus monedula*. *Journal of Avian Biology*, 26(3), pp. 217-224.
- Hwa, V. et al., 1999. The insulin-like growth factor-binding protein superfamily. *Pediatrics*, Köide 104, p. 1018–1021.
- Janssen, J. A. M. J. L., van der Lely, A. J. & Lamberts, S. W. J., 2003. Circulating free insulin-like growth-factor-I (IGF-I) levels should also be measured to estimate the IGF-I bioactivity. *Journal of Endocrinological Investigation* , Köide 26, p. 588–594.
- Jones, J. I. & Clemmons, D. R., 1995. Insulin-Like Growth Factors and Their Binding Proteins: Biological Actions. *Endocrine Reviews*, 16(1), pp. 3-34.
- Kaminski, P., Leszek, J. & Joerg, B., 2015. Nestling Development of Jackdaws *Corvus monedula* in Agricultural Landscape. *de gruyter open*, Köide 39, pp. 4-23.
- Kenyon, C., 2010. The genetics of ageing. *Nature*, Köide 464, p. 504–512.
- Kubitza, R. J., Bugnyar, T. & Schwab, C., 2014. Pair bond characteristics and maintenance in free-flying jackdaws *Corvus monedula*: effects of social context and season. *Journal of Avian Biology*, 46(2), pp. 206-215.
- Kuznetsova, A. B. P. B. C. R., 2017. “lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models.” *_Journal of Statistical Software_*, *82*(13), 1-26.
- Lack, D., 1948. Natural Selection and Family Size in the Starling. *Evolution*, 2(2), pp. 95-110.
- Lack, D., 1954. *The natural regulation of animal numbers*. London: Clarendon Press.
- Lack, D., 1968. *Ecological adaptations for breeding in birds*. London: Chapman & Hall.
- Leniowski, K. & Węgrzyn, E., 2018. Synchronisation of parental behaviours reduces the risk of nest predation in a socially monogamous passerine bird. *Sci Rep*, 8(7385).

- Lenth, R., 2023. *_emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means_*. R package version 1.8.5.
- Levene, H., 1960. *Robust Tests for Equality of Variances*. In: Olkin, I., Ed., *Contributions to Probability and Statistics*. Palo Alto: Stanford University Press.
- Lodjak, J., Mägi, M. & Tilgar, V., 2014. Insulin-like growth factor 1 and growth rate in nestlings of a wild passerine bird. *Functional Ecology*, *Köide* 28, pp. 159-166.
- Lodjak, J., Mägi, M. & V., T., 2016. Does the interaction between glucocorticoids and insulin-like growth factor 1 predict nestling fitness in a wild passerine?. *Gen. Comp. Endocrinol.*, *Köide* 225, pp. 149-154.
- Lodjak, J. & Verhulst, S., 2020. Insulin-like growth factor 1 of wild vertebrates in a life-history context. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *Köide* 518.
- Low, M., Makan, T. & Castro, I., 2012. Food availability and offspring demand influence sex-specific patterns and repeatability of parental provisioning. *Behav Ecol*, *Köide* 23, p. 25–34.
- Magrath, R. D., 1989. Hatching asynchrony and reproductive success in the blackbird. *Nature*, *Köide* 339, p. 536–538..
- Mahr, K. et al., 2020. Insulin-like growth factor 1 is related to the expression of plumage traits in a passerine species. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *74*(39).
- Meyrier, E. et al., 2017. Happy to breed in the city? Urban food resources limit reproductive output in Western Jackdaws. *Ecology and evolution*, *7*(5), pp. 1363-1374.
- Mock, D. W., 2022. Parental care in birds. *Current biology*, *32*(20), pp. 1132-1136.
- Nakae, J., Kido, Y. & Accili, D., 2001. Distinct and Overlapping Functions of Insulin and IGF-I Receptors. *Endocrine Reviews*, *22*(6), p. 818–835.
- Ridenour, M., Spicer, L. J. & Grindstaff, J. L., 2023. Insulin-like growth factor 1 and the hormonal mediation of sibling rivalry. *General and Comparative Endocrinology*, *Köide* 330.
- Røskaft, E., 1983. Sex-Role Partitioning and Parental Care by the Rook *Corvus frugilegus*. *Ornis Scandinavica*, *14*(3), pp. 180-187.
- Ross, R. & Buchanan, C., 1990. Growth Hormone Secretion: Its Regulation and the Influence of Nutritional Factors. *Nutrition Research Reviews*, *3*(1), pp. 143-162.
- Röell, A., 1978. Social Behaviour of the Jackdaw, *Corvus monedula*, in Relation to Its Niche. *Behaviour*, *Köide* 64, pp. 1-124.
- Salomons, H., Dijkstra, C. & Verhulst, S., 2008. Strong but variable associations between social dominance and clutch sex ratio in a colonial corvid. *Behavioral Ecology*, *19*(2), p. 417–424.
- Santos, E. S. A. & Nakagawa, S., 2012. The costs of parental care: a meta-analysis of the trade-off between parental effort and survival in birds. *Evolutionary Biology*, *25*(9), pp. 1911-1917.

- Shapiro, S. & Wilk, M., 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, Köide 52, p. 591–611.
- Silver, R. A. H. a. B. G. F., 1985. Parental care in an ecological perspective: A quantitative analysis of avian subfamilies. *Am. Zool*, Köide 25, pp. 823-840.
- Stearns, S., 1992. *The Evolution of Life Histories*. New York: Oxford University Press.
- Stratikopoulos, E. et al., 2008. The hormonal action of IGF1 in postnatal mouse growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49), pp. 19278-19383.
- Trivers, R. L., 1974. Parent-Offspring Conflict. *American Zoologist*, 14(1), p. 249–264.
- Verhulst, S. & Salomons, H. M., 2004. Why fight? Socially dominant jackdaws, *Corvus monedula*, have low fitness. *Animal Behaviour*, 68(4), pp. 777-783.
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. New York: Springer-Verlag.
- Williams, T. D., 2018. Physiology, activity and costs of parental care in birds. *J Exp Biol*, 221(17).

Litsents töö elektroonseks avaldamiseks veebis

Mina, Helerin Lilleleht,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „Vanemhoole ja pesapoja kasvu füsioloogia - individuaalne varieeruvus vabaltelaval värvulisel“, mille juhendajad on Jaanis Lodjak ja Marko Mägi, 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.

Helerin Lilleleht
26.05.2023