

DAUGAVPILS UNIVERSITĀTE
Sistemātiskās bioloģijas institūts
Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts „Bior”

Mg. biol. **Dina Cīrule**

**STRESS, IZDZĪVOŠANA, ASINS PARAZĪTI UN
HEMATOLOĢISKIE PARAMETRI PUTNIEM**

Promocijas darba
KOPSAVILKUMS
bioloģijas doktora (Dr.biol) zinātniska grāda iegūšanai
(specialitāte: ekoloģija)

Daugavpils 2012



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā
«Atbalsts Daugavpils Universitātes doktora studiju īstenošanai»
Vienošanās Nr. 2009/0140/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/015

Promocijas darbs izstrādāts laika periodā no 2007. līdz 2012. gadam.

Doktora studiju programma: Bioloģija, apakšnozare – ekoloģija.

Promocijas darba zinātniskais vadītājs:

Dr. biol. Indriķis Krams, Daugavpils Universitātes Sistemātiskās bioloģijas institūta Dzīvnieku ekoloģijas un evolūcijas laboratorijas vadošais pētnieks

Oficiālie recenzenti:

- Prof. Artūrs Škute, Daugavpils Universitāte, Latvija
- Prof. Peeter Hörak, Tartu Universitāte, Igaunija
- Asoc. prof. Jānis Priednieks, Latvijas Universitāte, Latvija

Promocijas padomes priekšsēdētājs: Dr. biol., prof. Arvīds Barševskis

Promocijas darba aizstāvēšana notiks Daugavpils Universitātes Bioloģijas zinātnes nozares Promocijas padomes atklātajā sēdē 2012. Gada 21.novembrī Daugavpilī, Vienības ielā 13, 311. auditorijā plkst.13.00.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Daugavpils Universitātes bibliotēkā, Saules ielā 1/3, Daugavpilī un <http://du.lv/lv/zinatne/promocija/darbi>

Atsauksmes sūtīt promocijas padomes sekretārei Daugavpilī, Vienības ielā 13, LV-5401, tālrunis 65425297, e-pasts: jana.paidere@du.lv.

Padomes sekretāre: Mg. biol. Jana Paidere, Daugavpils Universitāte, pētniece.

SATURS

PUBLIKĀCIJU SARAKSTS	4
IEVADS	5
Individuālā ģenētiskā pielāgotība: izdzīvošana un vairošanās	
Individuālās ģenētiskās pielāgotības komponenti un stresa sastāvdaļas	
Indivīdu fizioloģiskā stāvokļa novērtējums pēc ķermeņa masas, tauku rezervēm un hematoloģiskajiem rādītājiem	
Asins parazītu ekoloģiskā un evolucionārā loma	
Pētījuma mērķis	
MATERIĀLI UN METODES	12
Pētījumā izmantotās sugas	
Pētījuma vieta	
Putnu ķeršana, iezīmēšana un sagatavošana pētījumam	
Ķermeņa masas, zemādas tauku slāņa, ķermeņa rezervju un muskuļu indeksa noteikšana	
Asins hematoloģisko rādītāju noteikšana	
Asins parazītu noteikšana	
Ziemeļu taigas biotopa kvalitātes izpēte	
REZULTĀTI	16
Indivīdu ķermeņa rezerves īpaši zemos apkārtējās vides temperatūras apstākļos	
Heterofīlo leikocītu un limfocītu (H/L) koncentrācijas izmaiņas īpaši zemos apkārtējās vides temperatūras apstākļos	
Stresa stāvokļa ilgums un hematoloģiskie rādītāji	
Leikocītu skaits, vairošanās sekmes un stresa atkarība no biotopa	
DISKUSIJA	23
Ziemas stress un dzimumu specifiskā izdzīvošana sociālajās grupās	
Leikocītu skaita ātrās izmaiņas stresa apstākļos	
Ķermeņa indekss, hematoloģiskie rādītāji un vairošanās sekmes	
Stress un asins parazīti ligzdojošiem putniem	
KOPSAVILKUMS	29
SECINĀJUMI	30
LITERATŪRAS SARAKSTS	31

PUBLIKĀCIJU SARAKSTS

Promocijas darbs ir balstīts uz publikācijām, kuras disertācijas tekstā ir norādītas ar romiešu ciparu palīdzību. Oriģinālie raksti ir publicēti ar izdevēju atļaujām.

- I. I. Krams, D. Cirule, V. Suraka, T. Krama, M.J. Rantala and G. Ramey. Fattening strategies of wintering tits support the optimal body mass hypothesis under conditions of extremely low ambient temperature. *Functional Ecology*; 2010, 24:172-177; DOI: 10.1111/j.1365-2435.2009.01628.x
- II. I. Krams, D. Cirule, J. Vrublevska, A. Nord, M.J. Rantala, T. Krama. Nocturnal loss of body reserves reveals high survival risk for subordinate great tits wintering at extreme low ambient temperatures. *Oecologia* (in press); doi: 10.1007/s00442-012-2505-7
- III. I. Krams, D. Cīrule, T. Krama, J. Vrublevska. Extremely low ambient temperature affects haematological parameters and body condition in wintering Great Tits (*Parus major*). *Journal of Ornithology*; 2011, 152: 889-895; DOI: 10.1007/s10336-011-0672-7
- IV. D. Cīrule, T. Krama, J. Vrublevska, M.J. Rantala, I. Krams. A rapid effect of handling on counts of white blood cells in a wintering passerine bird: a more practical measure of stress? *Journal of Ornithology*; 2012, 153: 161-166; DOI: 10.1007/s10336-011-0719-9
- V. I. Krams, D. Cirule, T. Krama, M. Hukkanen, S. Rytönen, M. Orell, T. Iezhova, M. Rantala, L. Tummeleht. Effect of forest management on haematological parameters, blood parasites, and reproductive success of the Siberian tit (*Poecile cinctus*) in Northern Finland. *Ann.Zool.Fennici*; 2010, 47: 335-346; ISSN 1797-2450

Autora pieminēšanas kārtība publikācijā norāda tā ieguldījumu pētījuma veikšanā.

IEVADS

Pētījuma aktualitāte

Ekoloģija pēta organismu un to apkārtējās vides mijiedarbību, šīs mijiedarbības mehānismus, kā arī izdzīvošanu, augšanu, attīstību un vairošanos regulējošo, ar individuālo ģenētisko pielāgotību saistīto, mehānismu izcelšanos un evolūciju. Individuālā ģenētiskā pielāgotība ir evolucionārās teorijas pamatkonceptcija. Tā var tikt definēta vai nu attiecībā uz ģenotipu vai fenotipu attiecīgos vides apstākļos. Abos gadījumos tā apraksta spēju izdzīvot un vairoties, un tā ir līdzvērtīga noteiktā ģenotipa vai fenotipa indivīda vidējam devumam nākamās paaudzes ģenofondā. Ja viena ģēnu lokusa daudzkārtējā alēle ietekmē individuālo ģenētisko pielāgotību, tad populācijā šīs alēles sastopamība var izmainīties dažu paaudžu laikā. Alēles, kuru nesēji sasniedz lielāku ģenētisko pielāgotību, kļūst izplatītākas populācijas ģenofondā dabiskās atlases ceļā.

Pazīmju dabiskā variēšana pastāv visu organismu populācijās. Dabiskā atlase ir process, kura gaitā bioloģiskās pazīmes kļūst vairāk vai mazāk izplatītas populācijā, pateicoties to nesēju atšķirīgām vairošanās sekmēm, kas ir viens no evolūcijas pamatmehānismiem. Šis process var notikt nejauši vai laika gaitā ārējo faktoru ietekmē. Tas notiek tāpēc, ka nejaušas mutācijas rada organismu ģenoma izmaiņas un šīs mutācijas var tikt nodotas pēcnācējiem. Visā indivīda dzīves laikā viņa ģenoms ir mijiedarbībā ar apkārtējo vidi, kas rada individuālo pazīmju mainību. Ģenoma apkārtējā vide sevī ietver: šūnu ietekmi molekulārajā līmenī, citu indivīdu ietekmi, populācijas, sugas, kā arī vides abiotiskos faktorus. Indivīdi ar kādām noteiktām pazīmēm vienmēr var izdzīvot un vairoties sekmīgāk, nekā indivīdi ar atšķirīgām ģenētiskajām un fenotipiskajām pazīmēm. Tādā veidā populācijās norisinās evolūcijas process. Tāpēc faktori, kas ietekmē izdzīvošanu un vairošanās sekmes, ir vitāli nozīmīgi bioloģijas zinātnei.

Ārējās vides faktori, iekšējie vai ārējie kairinātāji pastāvīgi izjauc hemeostāzes procesu līdzsvaru. Katra organisma stāvoklis kādā noteiktā laika sprīdī ir nekas cits kā svārstīšanās ap hemeostāzes līdzsvara punktu jeb organisma izdzīvošanai optimālo stāvokli. Faktorus, kas rada šīs svārstības, var interpretēt kā stresu. Situācijas, kas rada dzīvības briesmas, piemēram, organisma vai tā pēcnācēju ilgstoša badošanās, slimības vai parazīti, skarbi ārējās vides apstākļi, tādi kā, ārkārtīgi zema apkārtējās vides temperatūra un citu resursu trūkums, var ievērojami izjaukt organisma iekšējās vides līdzsvaru. Arī sociālās vides faktori var ietekmēt indivīdu fizioloģisko stāvokli. Zemākā sociālā ranga indivīdiem bieži vien ir pieejams mazāks vitāli nepieciešamo resursu daudzums, tāpēc subdominantu spējas izdzīvot un vairoties samazinās. Tas nozīmē, ka stress izpaužas apstākļos, kad vides izvīrītās prasības pārsniedz organisma dabiskās pašregulācijas spējas (Koolhaas et al. 2011). Tomēr joprojām trūkst empīrisko datu par organismu spējām pretoties stresam mainīgas dabiskās vides apstākļos.

Indivīda fizioloģisko stāvokli var definēt kā šim organismam pieejamo resursu daudzumu, kas tiek ieguldīts individuālo ģenētisko pielāgotību sekmējošās pazīmēs (Lorch et al. 2003). Tāpēc eksperimentālos pētījumos indivīdu fizioloģiskā stāvokļa adekvāts izvērtējums ir svarīgs mērķis, lai saprastu kāpēc un kā indivīdi atšķiras viens no otra attiecībā uz to dzīves norisēm un ģenētisko pielāgotību. Tāpēc, veterinārmedicīniskajā praksē izmantotās metodes, kas sekmē izpratni par organisma fizioloģisko atbildes reakciju uz ārējās vides faktoru iedarbību, tiek aizvien vairāk un vairāk izmantotas savvaļas dzīvnieku ekoloģiskajos pētījumos. Šīs metodes, kas balstītas uz dažādām asins analīzēm, var tikt lietotas, aprakstot dažādus fizioloģiskos stāvokļus, tādus kā, imūnsistēmas stāvoklis, trofiskais stāvoklis, fizioloģiskais stress, antioksidatīvie rādītāji, hormonu līmenis un oksidatīvais stress.

Tomēr līdz šim nav sasniegta pilnīga izpratne par to kādā veidā augstāk minētie veselības rādītāji ir saistīti ar organisma imūnsistēmas stāvokli (e.g. Buchanan et al. 2000), kā arī – vai imūnsistēmas stāvoklis ir atkarīgs no rezistences pret patogēniem un parazītiem (Ryder 2003; Adamo 2004). Vairošanās sezonas laikā, indivīdu stāvoklim vajadzētu mainīties papildus, atkarībā no vairošanās procesa stadijas, dzimuma, vecuma, biotopa kvalitātes un no dzimuma un hormonu atkarīgās parazītu ietekmes. Tāpēc, lai individuālā fizioloģiskā stāvokļa parametrus varētu interpretēt adaptīvās evolūcijas gaismā, ir nepieciešams uzkrāt vairāk informācijas un zināšanu par šo parametru mainības cēloņiem un likumsakarībām.

Savos pētījumu apskatos Wikelski & Cooke (2006) un Romero (2004) uzsvēra populāras fizioloģiskā stresa novērtēšanas metodes nozīmi: virsnieru glikokortikoīdu, tādu kā, kortikosteroīdu līmeņa noteikšanu asins plazmā. Šī metode tiek plaši pielietota ekoloģijas pētījumos un ir pierādījusi sevi, kā neatsveramu pētniecisku pieeju. Taču, kā jau ar visām metodēm, arī šai pieejai ir savi trūkumi. Piemēram, noķertajiem savvaļas dzīvniekiem, kortikosteroīdu līmenis asinīs pieaug ārkārtīgi strauji (Romero & Reed 2005), šādi apgrūtinot hormonālā pamatlīmeņa noteikšanu lauka pētījumos. Risinājums varētu būt papildus metožu ieviešana fizioloģiskā stresa novērtēšanai. Pēdējā laikā ekologu vidū, īpaši putnu pētījumu jomā, ir kļuvis populāri šim nolūkam izmantot hematoloģisko parametru noteikšanu, t.i. relatīvā leikocītu skaita (WBC) noteikšana asins uztriepēs. Šī pieeja deva papildus alternatīvu metodi kortikosteroīdu mērījumiem un kā apskatīts turpmāk, kortikosteroīdu līmeņa pieaugums mugurkaulnieku imūnsistēmā rada raksturīgas izmaiņas asinsainā, kuras var tieši saistīt ar hormonu līmeņa izmaiņām.

Leikocītu skaitīšanas metode piedāvā noteiktas priekšrocības, salīdzinot ar tiešajiem glikokortikoīdu mērījumiem: tā neuzliek laika ierobežojumus asins paraugu ņemšanai un ir nosacīti lēta. Un visbeidzot, hematoloģiskā atbildes reakcija uz stresu ir novērojama visās taksoniskās grupās, nodrošinot to, ka šī pieeja stresa novērtēšanai, ir adekvāta izmantošanai visiem mugurkaulniekiem. Vienā taksoniskajā grupā iegūtie rezultāti varētu būt pielietojami, izvirzot hipotēzes attiecībā arī uz citām taksoniskajām grupām. Tomēr līdz šim, par

hematoloģiskajiem parametriem it īpaši suboptimālos ārējās vides apstākļos ir zināms samērā maz, bet tieši šajos apstākļos darbojas dabiskās atlases mehānismi.

Parazītisms ir viens no svarīgākajiem dabiskās atlases spēkiem, kas ietekmē savvaļas dzīvniekus. Tips *Apicomplexa*, pēc novecojušā sistemātiskā iedalījuma *Sporozoa* tipa sastāvdaļa kopā ar *Microsporidia* un *Myxosporidia*, veido lielu un kosmopolītisku vienšūņu parazītu kopumu. Pie šīs filoģenētiskas grupas pieder hemosporīdijas, ieskaitot malārijas parazītus *Plasmodium sp.*, kuri inficē lidojošos asins sūcējus, kā vektorus, inficējot daudzus mugurkaulnieku klases pārstāvjus. Daudzām putnu sugām asins parazīti ir parasta infekcija. Literatūrā ir dati par *Plasmodium*, *Haemoproteus* and *Leucocytozoon* asins parazītu hronisko infekciju īslaicīgām sekām attiecībā uz savvaļas putnu vairošanās sekmēm (e.g. Merino et al. 2000; Marzal et al. 2005; Knowles et al. 2010). Taču šo parazītu ietekme uz putnu izdzīvošanu savvaļas populācijās vēl aizvien paliek neskaidra (e.g. Stjernman et al. 2004). Tāpēc paliek neskaidrs vai asins parazītu infekcijas atstāj paliekošas sekas uz ģenētisko pielāgotību, kas ir viens no svarīgākajiem pieņēmumiem saimnieka – parazīta mijiedarbības pētījumos. Daži starpsugu pētījumi (Richner et al. 1995; Nordling et al. 1998; Marzal et al. 2008) un salīdzinošās taksonomijas pētījumi (Møller & Nielsen 2007) sniedz datus par labu negatīvai asins parazītu ietekmei uz putnu izdzīvošanu dabiskos apstākļos. Taču šie pētījumi neņem vērā pētāmo organismu apdzīvotā biotopa kvalitāti un resursu pieejamību, tā mijiedarbību ar organisma individuālo fizioloģisko stāvokli un parazītu izplatību.

Mūsdienās biotopu iznīcināšana tiek uzskatīta par vissvarīgāko faktoru, kas izraisa sugu izmiršanas procesus (Fortuna & Bascombe 2006). Dabisko biotopu kopplatības samazināšanās bieži vien sasniedz kritisko sliekšni, aiz kura populāciju izdzīvošana vairs nav iespējama. Daudzviet pasaulē notiek dabisko biotopu fragmentācija - neskatie pirmsatnējie meži, savannas, pļavas un tundra tiek pārvērsti par apsaimniekotām teritorijām, kur, piemēram, mazi mežu laukumi mijas ar kailcirtēm un jaunaudzēm (Gustafsson & Parker 1992). Šīs pārmaiņas rada dzīvniekiem barības trūkumu (Krams et al. 2001, Zanette et al. 2000). Savukārt barības trūkums rada hronisku fizioloģisko stresu (Romero & Wikelski 2001), kurš izpaužas kā augšanas un imūnsistēmas darbības traucējumi, pazemināta rezistence pret slimībām (Suorsa et al. 2003) - viss, kas pazemina izdzīvošanas un vairošanās sekmes (Wasser et al. 1997, Romero & Wikelski 2001, Griesser et al. 2007).

Šis apjomīgais pētījums veiksmīgi turpina iepriekšējos darbus par Latvijas lielās zīlītes populāciju un arī rindu citu pētījumu par dominējošo grupu locekļiem, kam pie nosacīti zema enerģijas patēriņa un augstiem barības pieejamības apstākļiem, ir iespēja uzturēt zemākas ķermeņa rezerves (Lima 1986; Gosler and Carruthers 1999).

Pētījumu novitāte

Praktiski līdz šim nebija datu par Sibīrijas zīlītes *Poecile cinctus* hematoloģiskajiem rādītājiem, asins parazītiem, šo parametru savstarpējām sakarībām un saistību ar vairošanās intensitāti, kā arī ar dažām putnu biotopu

īpatnībām. Pētījuma laikā pirmo reizi tik tālu ziemeļos putnu asinīs tika konstatēts asins parazīts - malārijas plazmodijs.

Šis ir pirmais pētījums, kas noteica, vai dažādas intensitātes mežu apsaimniekošana ietekmē pieaugušo Sibīrijas zīlīšu *Poecile cinctus* vairošanās sekmes, hematoloģiskos rādītājus un asins parazītus, kā arī to mazuļu hematoloģiskos parametrus.

Glikokortikoīdu līmeņa paaugstināšanās pie dažādiem stresoriem rada raksturīgas izmaiņas arī leikocītu sastāvā tā, ka tās var noteikt un saistīt ar hormonu līmeņa izmaiņām. Hematoloģisko parametru – leikocītu skaita izmaiņu izpēte tika izmantota kā samērā lēta alternatīva glikokortikoīdu metodei, taču metodes trūkumi – uzskats, ka leikocītu izmaiņas ir par lēnu stresa ietekmes izpētei. Daži pretrunīgi ziņojumi radīja priekšnosacījumus pārbaudīt šo apgalvojumu. Pētījumā iegūtie rezultāti liecināja, ka stresa ietekmē asins leikocītu koncentrācijas izmaiņas var notikt straujāk nekā līdz šim uzskatīts. Novēroto izmaiņu straujums no jauna pierādīja to, ka šīs izmaiņas rada akūtais stress un heterofīlo, eozinofīlo leikocītu un limfocītu koncentrācijas un H/L izmaiņas var izmantot fizioloģiskās ekoloģijas un dabas aizsardzības jomā kā stresa indikatorus.

Šajā promocijas darbā tika izvirzītas un pārbaudītas vairākas zinātniskas hipotēzes, kas saistītas ar dažādiem putnu stresa veidiem, ko izraisa vides faktori un atspoguļojas indivīdu sociālo rangu atšķirības. Šis pētījums arī Latvijā apstiprināja optimālās ķermeņa masas hipotēzi, pierādot, ka papildus enerģijas rezerves sekmē izvairīšanos no badošanās riska, kamēr no plēsonības riska izvairīties palīdz, mazāk riskanta barošanās laika izvēle.

Darba hipotēze

Apkārtējās vides izraisītais un fizioloģiskais stress ir savstarpēji saistīti un var ietekmēt putnu organisma fizioloģiskos parametrus gan vairošanās sezonā, gan ziemošanas periodā. Tomēr joprojām trūkst empīrisku datu par organismu spējām pretoties stresam mainīgas dabiskās vides apstākļos.

Tādejādi šajā darbā tika izvirzīta hipotēze: izpētīt faktorus, kas ietekmē ziemojošo un vairošanās periodā esošo putnu izdzīvošanu un vairošanās sekmes, kas ir individuālās ģenētiskās pielāgotības pamatā.

Darba mērķi un uzdevumi

Mērķi:

Pirmais pētījuma mērķis - pārbaudīt vai pastāv ekoloģiskais kompromiss starp badošanos un plēsonību, kas ir atkarīgs no ziemojošo lielo zīlīšu *Parus major* ķermeņa enerģijas rezervēm;

Otrais mērķis - konstatēt vai ziemas periodā, vidēja līdz ekstremāli zema dabiskā temperatūras režīma apstākļos, leikocītu parametri, muskuļu stāvokļa indekss, kā veselības parametri, atšķiras starp dominances strukturēto lielo zīlīšu bariņu;

Trešais mērķis - izpētīt šo putnu vairošanās sekmes saistībā ar dažiem hematoloģisko parametru lielumiem, kā arī asins parazītu sastāvu un izplatību.

Uzdevumi:

- novērtēt pētījuma vietas biotopu,
- noteikt putnu sociālo sadalījumu barā,
- noteikt noķerto putnu svaru, tā izmaiņas pētījumu gaitā,
- izmērīt spārnu garumu, noteikt ķermeņa masas indeksu,
- novērtēt tauku rezerves pēc 5 punktu sistēmas, to izmaiņas pētījumu gaitā,
- noteikt muskuļu indeksu pēc 3 punktu sistēmas, to izmaiņas pētījumu gaitā,
- izstrādāt putniem nosacījuma refleksu uz barošanās signālu,
- pēc asins noņemšanas, noteikt putnu leukocītu skaitu, leukocitāro formulu un H/L attiecību, izpētīt hematoloģisko parametru dinamiku,
- asins uztriepēs noteikt asins parazītu klātbūtni un to veidus.

Darba rezultātu aprobācija

Promocijas darbs – publikāciju kopa, balstīta uz 5 starptautiski recenzējamās žurnālos publicētajiem un publicēšanai iesniegtajiem zinātniskajiem rakstiem:

- I. Krams, D. Cirule, V. Suraka, T. Krama, M.J. Rantala and G. Ramey. Fattening strategies of wintering tits support the optimal body mass hypothesis under conditions of extremely low ambient temperature. *Functional Ecology* 2010, 24:172-177; DOI: 10.1111/j.1365-2435.2009.01628.x
- I. Krams, D. Cirule, J. Vrublevska, A. Nord, M.J. Rantala, T. Krama. Nocturnal loss of body reserves reveals high survival risk for subordinate great tits wintering at extreme low ambient temperatures. *Oecologia* (in revision)
- I. Krams, D. Cīrule, T. Krama, J. Vrublevska. Extremely low ambient temperature affects haematological parameters and body condition in wintering Great Tits (*Parus major*). *Journal of Ornithology*; 2011, 152: 889-895; DOI: 10.1007/s10336-011-0672-7
- D. Cīrule, T. Krama, J. Vrublevska, M.J. Rantala, I. Krams. A rapid effect of handling on counts of white blood cells in a wintering passerine bird: a more practical measure of stress? *Journal of Ornithology*; 2012, 153: 161-166; DOI: 10.1007/s10336-011-0719-9
- I. Krams, D. Cirule, T. Krama, M. Hukkanen, S. Rytkonen, M. Orell, T. Iezhova, M. Rantala. L. Tummeleht. Effect of forest management on haematological parameters, blood parasites, and reproductive success of the Siberian tit (*Poecile cinctus*) in Northern Finland. *Ann.Zool.Fennici*, 2010, 47: 335-346; ISSN 1797-2450

Par promocijas darba rezultātiem ziņots 11 starptautiskās zinātniskās konferencēs Latvijā un ārvalstīs. Konferenču tēžu krājumos publicētas sekojošas tēzes:

- T. Krama, I. Krams, D. Cīrule, A. Dzerkale, V. Suraka, M. Hukkanen. Ligzdojošo Sibīrijas zīlīšu *Parus cinctus* hematoloģiskie parametri, asins parazitū prevalence, parazitērijas intensitāte un to saistība ar vairošanās intensitāti. DU 50. Starptautiskā konference, 15.05-17.05.2008, Daugavpils, Latvija
- T. Krama, I. Krams, D. Cīrule at all. Blood parasites, hematological health indices and reproductive success of breeding Siberian tits in Northern Finland. International Veterinary Laboratory Scientific and Applied Conference "Laboratory diagnostics today and the future challenges", 27-29 August, 2008, Riga, Latvia, ISBN 978 - 9984 - 39 - 592 - 0
- D. Cīrule, V. Suraka. Ligzdojošo Sibīrijas zīlīšu hematoloģiskie parametri, asins parazitū prevalence un to saistība ar parazitērijas intensitāti. Starptautiskās zinātniskās konferences Raksti, 29. – 31.lpp., 2008.g. 14. novembrī, Jelgava, ISSN 1407 – 1754
- D. Cīrule. Hematological health indices, blood parasites, habitat quality and reproductive success of Siberian tits breeding in Northern Finland. 2nd biannual Baltic meeting "Effects of climate change on avian reproductive biology", 8-9 December, 2009, Laitse Loss, Estonia
- Cīrule Dina, Krams Indriķis, Krama Tatjana, Vrublevska Jolanta, Rantala Markus J. Stresa ietekmes un ziemojošo putnu leikocītu skaita izmaiņu dinamiska saistība. DU 52. Starptautiskā konference, 14.04-16.04.2010, Daugavpils, Latvija
- Tatjana Krama, Arnis Berzins, Dina Cīrule, Jolanta Vrublevska, Indriķis Krams. A rapid effect of handling on counts of white blood cells in a wintering passerine bird: a more practical measure of stress? V European Conference on Behavioural Biology, 15 – 19 July 2010, Italy, Ferrara
- Dina Cīrule, Tatjana Krama, Jolanta Vrublevska, Indriķis Krams. A rapid effect of handling on counts of white blood cells in a wintering passerine bird: a more practical measure of stress? Starptautiskās zinātniskās konferences Raksti, 162.lpp., 2010.g. 29. oktobrī, Jelgava, Latvija
- Cīrule, D., Vrublevska, J. White blood cell counts as a representative method to assess environmental stress in wintering birds. 6th International Conference „Research and Conservation of Biological Diversity in Baltic region”, 28-29 April 2011, Daugavpils, Latvia
- Indriķis Krams, Valerija Suraka, Tatjana Krama, Dina Cīrule. A comparison of microscopy and PCR diagnostics for low intensity infections of blood parasites in birds. SVA and Nordic Viral Zoonoses Network Disease vectors today: Changes in ecology, climate and public health risks, 24-27 May 2011, Saaremaa, Estonia
- Dina Cīrule, Tatjana Krama, Jolanta Vrublevska, Indriķis Krams. A rapid effect on handling on counts of white blood cells in a wintering passerine

bird: a more practical measure of stress? 8 th Conference of the European Ornithologists' Union, 27-30 August 2011, Riga, Latvia

- D. Cīrule, I. Krams. White blood cell count as method to identify alterations of stress in a wintering passerine birds. 3 rd International Conference on Laboratory Diagnostics in Veterinary Medicine, Food and Environmental Safety, 15-16 September 2011, Riga, Latvia
- D. Cīrule, V. Suraka. Comparative analysis reveals a possible immunity related absence of blood parasites in common gulls *Larus canus* and blackheaded gulls *Chroicocephalus ridibundus*. DU 54. Starptautiskā konference, 18.04-20.04.2012, Daugavpils, Latvija

MATERIĀLS UN METODIKA

Pētījumā izmantotās sugas

Lielā zilīte *Parus major* pieder pie zvirbuļveidīgo putnu kārtas un zilīšu dzimtas *Paridae*. Tā ir plaši izplatīta un ierasta suga jebkuros mežos Eiropā, vidējos austrumos, Centrālajā un Ziemeļāzijā un daļā Ziemeļāfrikas. Parasti tā pieder pie nometniekiem un lielākā daļa zilīšu migrē tikai ziemēļu platuma grādos vai ekstremāli bargās ziemās. Līdz 2005. gadam šajā dzimtā ieskaitīja arī daudzas citas apakšdzimtas. Taču DNS pētījumi pierādīja šo apakšdzimtu atšķirību no lielās zilītes. *Parus* ģintī lielā zilīte joprojām ir visizplatītākā putnu suga. Vasarā tā galvenokārt ir kukaiņēdājs, bet ziemā barības patēriņam tā izmanto plašu barības spektru. Kā visas zilītes, tās ir dobumos ligzdojošas, parasti tam izmantojot dabīgos koku dobumus un putnu būrītšus. Māģītes izdēj aptuveni 12 olas un pašas tās izperē, bet mazuļus audzina abi vecāki. Vairumā gados zilīšu pāris izaudzina divus perējumus. Lielā zilīte ir labi adaptējusies dzīvei cilvēku izmainītā vidē, ir ierasts un pazīstams putns pilsētas parkos un dārzos. Lielā zilīte ir viena no visvairāk pētītajām putnu sugām pasaulē (I, II, III, IV).

Sibīrijas zilīte *Poecile cinctus*, agrāk *Parus cinctus* arī pieder pie zvirbuļveidīgo putnu kārtas un zilīšu dzimtas *Paridae* (V). Šī suga ir plaši izplatīts nometnieks un sastopams subarktiskajā Skandināvijā un Āzijā ziemeļos, kā arī Ziemeļamerikā Aļaskā un Kanādas ziemeļrietumu taigā. Tas ir skuju koku apdzīvotājs. Kā nometniekiem raksturīgi, vairums putnu nemigrē. Abos kontinentos Sibīrijas zilīte ir sastopama galvenokārt skujkoku mežos līdz Polārajam lokam, kur skarbos apstākļus spēj izturēt tikai atsevišķas putnu sugas (Virkkala and Liehu 1990; Sekov and Germogenov 2006). Tā ir vidēji liela zilīte, 13.5–14 cm gara ar svaru 11–14.3 g. Galva ir tumši brūna ar baltiem vaigiem, brūnu muguru, spārnu spalvas melnganas ar bālganu apmali. Putna ķermeņa apakšdaļa ir gaiša ar bālgani brūniem sāniem. Agrāk šo putnu, kopā ar vairumu citu zilīšu, pieskaitīja pie *Parus* ģints, bet mitohondriālās DNS citohroma *b* sekvenču dati un morfoloģija rosināja uz secinājumiem, ka atdalot *Poecile*, daudz pienācīgāk tiks izteikta šo putnu saikne un vieta starp citām zilīšu ģintīm (Gill *et al.*, 2005).

Pētījuma vieta

Lauka pētījumi tika veikti Latvijas dienvidaustrumos Krāslavas tuvumā (54°58' Z, 27°10' A) (I, II, III, IV). Pētījuma vieta ir apmēram 20 km² liela. Vairāk nekā 85% kopējās platības aizņem meži, purvi, ezeri, upes, meža ezeri un strauti. Mežos dominē parastā priele *Pinus sylvestris* un parastā egle *Picea abies*. Mežu kailcirtes, priežu meža stādījumi, no lauksaimniecības aprītes izslēgtas pļavu platības un laiki pastiprina ainavas mozaīku. Parasti ziemā sniega sega klāj zemi no novembra līdz martam vai aprīlim. Ap ziemas saulgriežiem dienas garums vidēji ilgst 6.7 stundas. Pētījuma laikā klimats ziemas mēnešos bija auksts ar regulāriem aukstuma viļņiem.

Pētījums par Sibīrijas zīlītes vairošanās sekmēm, fizioloģisko stresu un asins parazītiem tika veikts Kūsamo apkārtnē (66°Z, 29°A), Somijas ziemeļos Polārā loka rajonā. Dominējošās koku sugas bija parastā priede, kuru var sastapt smilšainā augsnē, jauktās audzēs ar parasto egli un kūdrainās vietās bieži bija sastopams paugurainais bērzs *Betula pubescens*. Ziemeļu taigā Sibīrijas zīlīte ir nozīmīgākā putnu pamatsuga.

Putnu ķeršana, iezīmēšana un sagatavošana pētījumam

Pieaugušās lielās zīlītes tika ķertas, lietojot putnu tīklus vai ar aizcērtamās lamatas (I, II, III, IV). Ziemeļos lielās zīlītes tika noķertas arī būrišos, kurus katram zīlīšu baram izvietoja 200 m rādiusā no barotavām (II). Iepriekšējās vairošanās sezonas vai pētījuma laikā putni tika izmērīti (spārnu un kājas garums), nosvērti (lietojot *a 30 g Pesola* atsperu svāriņus), iezīmēti ar krāsainiem gredzeniem, tika noteikts to dzimums un vecums (pirmās ziemas zīlīte vai pieaudzis putns) (I, II, III, IV).

Pieaugušās Sibīrijas zīlītes tika ķertas būrišos mazuļu barošanas laikā, mazuļu vecums bija 9-12 dienas (V). Veikto mērījumu laikā neviens putns ligzdošanas vietu nepameta. Visi ligzdojošie putni tika apgredzenoti ar metāla un individuāliem plastmasas gredzeniem. Dzimums un vecums bija zināms jau no iepriekšējās sezonas vai arī konstatēti pētījuma laikā.

Ķermeņa masas, zemādas tauku slāņa, ķermeņa rezervju un muskuļu indeksa noteikšana

Noķerot tika noteikts lielo un Sibīrijas zīlīšu svars (I, II, III, IV, V). Tika novērtētas to tauku rezerves pēc 5 punktu sistēmas, vizuāli caur ādu (Helms 1968; Gosler 1996), novērtējot putnu zemādas tauku slāņa biezumu (I, II). Tika izmantoti arī sīkāki tauku indeksa daļījumi. Dažāda ranga putniem svara atšķirības starp indivīdiem variēja. Noteiktais putna svars tika pārvērst par ķermeņa masas indeksu (BWI), dalot svaru ar spārna garuma kubu (I, II).

Papildus uzkrātais liekais tauku slānis palielina putna svaru un tas var ietekmēt izvairīšanos no plēsējiem, tādejādi spārnu garums ir nozīmīgs attiecībā pret tauku rezervēm (Ekman & Lilliendahl 1993; Krams 2002). Lai iegūtu pētījumu mērījumus, putniem tika izstrādāts nosacījuma reflekss uz signālu, ko noteiktā laikā, ierodoties uz putnu novērošanu pie barotavām, atskaņoja pastāvīgais putnu barotājs (I, II). Muskuļu indeksa noteikšanai izmanto skalu no 0 līdz 3 saskaņā ar (Barlein 1995), vizuāli novērtējot krūšu muskuli (distrofija pret spēcīgi attīstītu *D. pectoralis*) (III).

Asins hematoloģisko rādītāju noteikšana

Visām zīlītēm no kājas tarsālās vēnas tika noņemtas asinis un savāktas mikrohematokrīta kapilārā. Manipulācijas tika veiktas 1 minūtes laikā, putni tika atbrīvoti 5 – 6 minūtē, kopš noķeršanas brīža (III, IV, V). Asinis tika paņemtas arī Sibīrijas zīlīšu mazuļiem (V). Nejausā secībā no katras ligzdas tika izņemti 1-3 putnu mazuļi, no tarsālās vēnas tika paņemts asins pilieniņš un uz priekšmetstikliņa

uzvilkta asins uztriepe (Bennett 1970; Valkiūnas 2005). Lai izpētītu dūriena manipulācijas iedarbību uz leukocītu sastāvu, H/L attiecību, visas lielās zīlītes 4 minūšu laikā, kopš izņemšanas no tīkla, tika ievietotas individuālos burtiņos (0.40 x 0.25 x 0.30 m), kas deva iespēju putniem no ārpusaules saņemt gan vizuālos gan skaņas signālus. Pēc tam tās jauktā secībā sagrupēja pa 4 grupām: putni, kuriem tika noņemtas asinis pirmo 4 minūšu laikā (n = 24); putni, kuriem asinis paņemtas 30 minūtē pēc to noķeršanas (n = 24); putni, kuriem asinis paņemtas 60 minūtē pēc saķeršanas (n = 24) un putni, kuriem asinis paņemtas 120 minūtē pēc to noķeršanas (n = 24). Šāds sadalījums grupās ļāva izvairsties no atkārtotas asins noņemšanas vienam un tam pašam putnam (Davis 2005). Pēc tam putni tika palaisti brīvībā tajā pašā vietā, kur tika noķerti.

Lai noteiktu asins leukocitāro formulu, nepieciešams aptuveni 15 mikrolitri asiņu, no kuriem pēc standartmetodes uz priekšmetstikliņa ar velkamo stikliņu izgatavo asins uztriepi, to ātri žāvējot gaisā, fiksējot un krāsojot (Houwen 2002) Paraugi tika fiksēti metanolā, žāvēti un krāsoti pēc Raita-Gimzas ātrās krāsošanas metodes. Visās asins uztriepēs tika noteikta leukocitārā formula, iegūstot limfocītu un heterofīlo leukocītu skaitu saskaņā ar noteiktiem kritērijiem (Hawkey and Dennett 1989). Gatavajā uztriepē tika skaitīti ne mazāk kā 100 leukocīti, paralēli ņemot vērā saskaitīto redzes lauku skaitu. Skaitījumam izvēlējās uztriepes vietas, kur eritrocīti izvietoti monoslānī bez lielām atstarpēm, lai maksimāli precīzi varētu noteikt to skaitu redzes laukā. Uztriepē uz 10000 eritrocītiem saskaitīja attiecīgo leukocītu skaitu, paralēli nosakot leukocitāro formulu. Lai noteiktu limfocītu un heterofīlo leukocītu skaitu uz 10000 eritrocītiem, to procentuālās vērtības no leukocitārās formulas reizina ar kopējo leukocītu skaitu uz 10000 eritrocītiem. Paaugstināts leukocītu skaits ir stresa sindroma un iekaisuma raksturīga pazīme. Parasti to izraisa paaugstināts heterofīlo un/vai limfocītu leukocītu skaits (Dein 1986; Ots et al. 1998). Limfocītiem ir svarīga loma imunitātes procesos, tie piedalās patogēnu atpazīšanā un iznīcināšanā. To koncentrācijas izmaiņas perifērajās asinīs var lietot kā netiešo šūnu imunitātes rādītāju. Reizēm ir grūti precīzi interpretēt to vērtības izmaiņas, tomēr tiek uzskatīts, ka limfocītu koncentrācijas samazināšanās liecina par stresa izraisītu imūnsupresiju (Hōrak et al. 1999) vai norāda uz parazitāras infekcijas neesamību (Ots and Hōrak 1998). Heterofīlie leukocīti ir nespecifiskas fagocītu šūnas, kas, iekaisuma procesa gaitā, cirkulē arī apkārtējos audos. To radītie reaktīvie oksidanti iznīcina patogēnus un parazītus, tomēr tie ir kaitīgi arī organisma audiem. Heterofīlo leukocītu koncentrācijas palielināšanos rada iekaisuma procesi, stress un infekcijas (Ots et al. 1998). Heterofīlo un limfocītu leukocītu attiecību (H/L) plaši lieto kā stresa indikatoru un attiecības palielināšanos izraisa dažādi stresori, kā, piemēram, infekcijas slimības, badošanās un vairošanās (Ots and Hōrak 1998; Moreno et al. 2002). Eozinofīlo leukocītu skaita pieaugums notiek strauji pie noteiktām slimībām. Eozinofīlie ir citotoksiski leukocīti, kas atbrīvo savas granulas ierosinātāja klātbūtnē.

Barības resursu pieejamība ir saistīta ar putnu rangiem sociālajās grupās, un dominantajiem indivīdiem ziemas apstākļos ir nodrošinātas lielākas izdzīvošanas iespējas (Ekman & Askenmo 1984; Krams et al. 2001; Koivula et al. 1996, Krams et al. 2010). Tāpēc, pie ekstremāli zemas ārējās vides temperatūras, subdominantajiem grupas indivīdiem varētu prognozēt heterofilo leukocītu skaita pieaugumu, limfocītu samazināšanos un H/L attiecības paaugstināšanos. Iepriekš uzskaitītās hematoloģisko parametru izmaiņas varētu būt īpaši aktuālas jaunajām zīlīšu mātītēm, jo pārējiem, augstāk sociālajā esošajiem indivīdiem, barības resursu iegūšanā ir daudz lielākas priekšrocības. Visas stresam raksturīgās asins parametru izmaiņas tiek prognozētas tieši tiem putniem, kuriem ir jāiztur visaugstākais stresa līmenis (IV) un indivīdiem, ligzdojošiem Somijas ziemeļos cilvēku apsaimniekotā un noplicinātā vidē (V).

Asins parazitū noteikšana

Asins uztriepes tika izskatītas eļļas imersijā ar gaismas mikroskopijas metodi pie palielinājuma 1000x, lai noteiktu *Haemaphysalis* un *Plasmodium* asins parazitus un 500x *Leucocytozoon*, *Trypanosoma* un *Microfilaria* noteikšanai. Parazīti tika uzskaitīti uztriepes zonā, kur šūnas veido vienmērīgu monoslāni vismaz 100 redzes laukos priekš *Leucocytozoon* un ne mazāk kā 200 redzes laukos *Haemaphysalis* and *Plasmodium* noteikšanai. Ja asins uztriepē tiek konstatēts kaut viens parazitū taksons, izmeklējamais indivīds uz asins parazitū infekciju tiek uzskatīts kā pozitīvs.

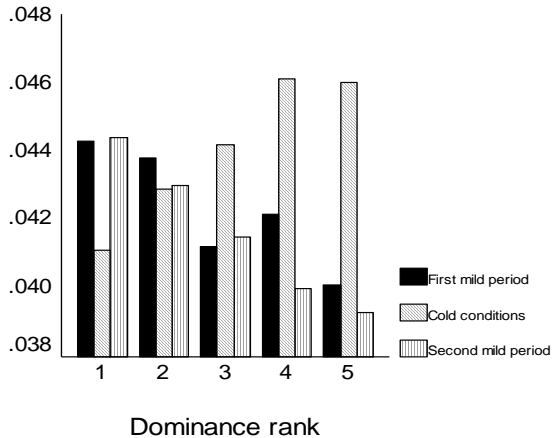
Ziemeļu taigas biotopa kvalitātes izvērtēšana

Sibīrijas zīlīšu dabisko vidi varēja iedalīt divās kategorijās - vidēji un stipri apsaimniekotas platības ar daudzveidīgu mežsaimniecisko darbību. Stipri apsaimniekotās platībās koki tiek regulāri izcirsti un tiem nav raksturīgs izteikts pamežs. Vidēji apsaimniekotās platībās mijas vietas, kur meži tika izcirsti vismaz desmit gadus atpakaļ, kopā ar lielu un neskartu skujkoku meža laukumiem (Virkkala 1990). Sibīrijas zīlītes barību meklē koku vainagos (Virkkala 1988), tādējādi meža struktūra to izdzīvošanai un pēcnācēju radīšanai ir ļoti svarīga. Vidēji apsaimniekoti meži arī raksturīgs daudz kritušo koku, kas uzlabo Sibīrijas zīlītes biotopa kvalitāti (Virkkala 1990; Orell et al. 1999). Abi meža biotopa tipi tika pārstāvēti ar meža masīviem vai laukumiem ne mazāk kā 45 ha lielumā ar Sibīrijas zīlītes būrīšiem to vidusdaļā. Sakarā ar Sibīrijas zīlīšu skaita samazināšanos, būrīšos tās tika konstatētas vismaz 1 km attālumā viena no otras. Tāpēc pētījumā konkrētajā meža masīvā vai meža biotopa laukumā tika uzstādīts ne vairāk kā viens būrītis. Ņemot vērā, ka Sibīrijas zīlītes izplatība bija kļuvusi nevienmērīga, tad diattālums starp diviem blakus esošajiem būrīšiem bija 4.25 km.

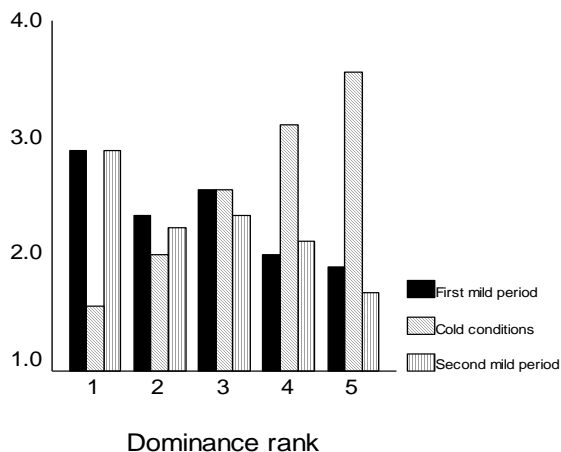
REZULTĀTI

Indivīdu ķermeņa rezerves īpaši zemos apkārtējās vides temperatūras apstākļos (I, II, III)

Pie vidēji aukstiem ziemas klimatiskiem apstākļiem, dominantajām lielajām zīlītēm tika prognozēts mazāks ķermeņa rezervju daudzums nekā subdominantajām zīlītēm. Savukārt, pie īpaši zemām apkārtējās vides temperatūrām, dominantajiem indivīdiem tika prognozēts palielināts ķermeņa rezervju daudzums, kam jāpārsniedz subdominanto zīlīšu ķermeņa rezervju apjomu. Rezultāti apstiprināja (1., 2. att.) prognozi, ka dominantās lielās zīlītes zemos apkārtējās vides temperatūras apstākļos, palielinoties badošanās riskam, palielina savas vakara ķermeņa rezerves (zemādas taukus un ķermeņa masas indeksu BWI) (1., 2. att.) uz savas drošības rēķina (I, II, III).

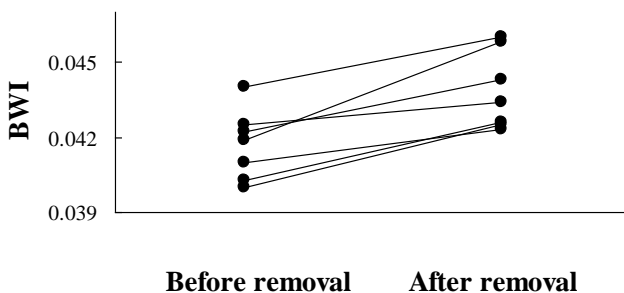


1. att. Attiecība starp lielo zīlīšu vidējo ķermeņa masas indeksu BWI (g/cm^3) un to sociālajiem rangiem vidēji zemas ārējās vides temperatūras, īpaši zemas apkārtējās vides temperatūras un atkārtoti vidēji zemas ārējās vides temperatūras apstākļos.



2. att. Attiecība starp lielo zīlīšu tauku rezervju apjomu un to sociālajiem rangiem vidēji zemas ārējās vides temperatūras, īpaši zemas apkārtējās vides temperatūras un atkārtoti vidēji zemas ārējās vides temperatūras apstākļos.

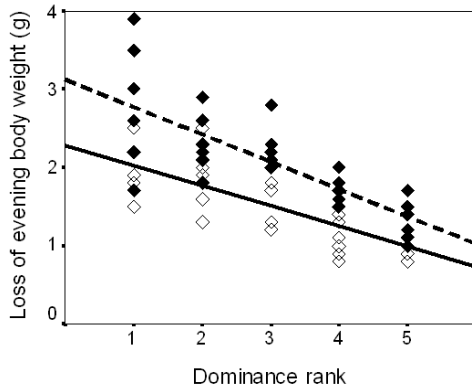
Pie īpaši zemas apkārtējās vides temperatūras pētījumā ar dominanto zīlīšu īslaicīgu izolēšanu no sociālās grupas, tika atklāts iemesls, kas samazina dominanto indivīdu enerģijas rezerves, un tā ir iekšsugas konkurence (I) (3. att.).



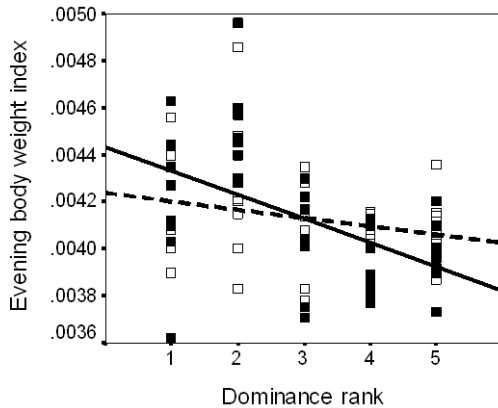
3. att. Subdominanto lielo zīlīšu ($n = 7$) ķermeņa masas indeksa (g/cm^3) izmaiņas paaugstinoties to rangam grupas sociālajā hierarhijā pēc dominanto zīlīšu izolēšanas uz vienu barošanas dienu īpaši zemas apkārtējās vides temperatūras.

Lai gan dominantiem indivīdiem vakarā tika konstatētas mazākas ķermeņa rezerves, kopumā to nakts ķermeņa svara un rezervju zudumi vienmēr bija mazāki nekā suddominantām zīlītēm (4.,5.att.). Naktīs, ziemas spelgona, kad temperatūra pazeminājās līdz -43°C būrīšos netika atrasta neviena nosalusi dominantā zīlīte, turpretim starp subdominantajiem no rīta nosalušas tika atrastas piecas jaunās un

viena pieaugusī zīlīšu mātīte. No rīta nosverot zīlītes, tika konstatēts, ka nosalušās subdominantās zīlītes ir zaudējušas līdz 23.83 % no sava vakara ķermeņa svara, kamēr izdzīvojušās dominantās zīlītes vidēji zaudēja 12.78 % no to ķermeņa svara. Kopumā iegūtie dati parādīja, ka dažāda ranga lielo zīlīšu barošanās stratēģija ir adaptīva ziemas barošanās apstākļiem, jūtīgi reaģējot uz apkārtējās vides temperatūras izmaiņām.



4. att. Attiecība starp lielo zīlīšu sociālo rangu grupas hierarhijā un to ķermeņa masas zudumiem nakts laikā vidēji zemas ārējās vides temperatūras (baltie rombi, nepārtrauktā līnija) un īpaši zemas apkārtējās vides temperatūras apstākļos (melnie rombi, pārtrauktā līnija)



5. att. Attiecība starp lielo zīlīšu sociālo rangu grupas hierarhijā un to ķermeņa masas indeksa zudumiem nakts laikā vidēji zemas ārējās vides temperatūras (baltie kvadrāti, nepārtrauktā līnija) un īpaši zemas apkārtējās vides temperatūras apstākļos (melnie kvadrāti, pārtrauktā līnija).

Pētījuma I un II rezultāti parādīja, ka lielo zīlīšu barošanās stratēģija mainās daudz ātrāk, nekā līdz šim tika uzskatīts un uzskatāmi atspoguļo tās adaptīvo lomu ziemas apstākļos un jūtīgo atbildes reakciju uz apkārtējās vides temperatūras izmaiņām. Kopumā var secināt, ka ekstremāli zema ārējās vides temperatūra putniem rada ļoti augstu fizioloģiskā stresa līmeni.

H/L attiecības izmaiņas īpaši zemos apkārtējās vides temperatūras apstākļos (III)

Ziemojošām lielajām zīlītēm bija būtiskas limfocītu skaita atšķirības (one-way ANOVA, $F_{3,171} = 13.15$, $P < 0.001$). Putnu dzimums un noķeršanas laika ietekme uz limfocītu skaitu bija būtiska, turpretim apkārtējās vides un vecuma ietekme nebija būtiska (Tukey's test, $P < 0.05$). Dzimuma \times noķeršanas laika mijiedarbība bija būtiska un limfocītu pazemināšanās bija būtiska zīlīšu mātītēm (Tukey's test, $P < 0.001$). Būtiska mijiedarbība starp dzimumu, noķeršanas laiku un apkārtējās vides temperatūru arī norādīja uz ievērojamu heterofīlo leikocītu skaita pieaugumu tikai putnu mātītēm (Tukey's test, $P < 0.01$) zemas apkārtējās vides temperatūras apstākļos. Visā pētījumu gaitā netika konstatēta būtiska atšķirība limfocītu skaita ziņā starp pieaugušajām un jaunajām mātītēm (Tukey's test, $P > 0.05$).

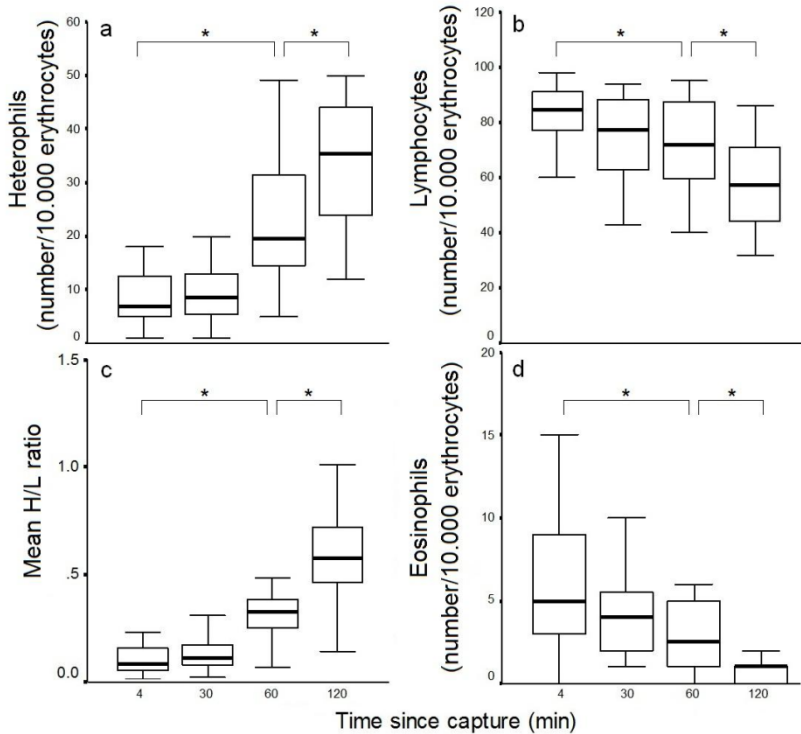
Arī H/L attiecība atšķīrās starp ziemojošo putnu bara indivīdiem (one-way ANOVA, $F_{3,171} = 13.15$, $P < 0.001$). Dzimuma un noķeršanas laika ietekme uz H/L attiecību bija būtiska, kamēr putnu vecuma ietekme tika konstatēta kā nebūtiska ($P > 0.05$). Dzimuma \times noķeršanas laika mijiedarbība uz H/L attiecības pieaugumu bija būtiska tieši mātītēm (Tukey's test, $P < 0.001$). Tika konstatēta nozīmīga mijiedarbība starp dzimumu un vecumu, atklājot, ka H/L attiecības palielināšanās attiecas galvenokārt uz jaunajām mātītēm (Tukey's test, $P < 0.001$). Tikpat svarīga bija dzimuma \times ārējās vides temperatūras \times vecuma mijiedarbība, norādot, ka vislielākais stresa līmenis parādās jaunajām zīlīšu mātītēm (Tukey's test, $P < 0.001$) tieši pie ekstremāli zemas ārējās vides temperatūras.

Muskuļu indekss jaunajām mātītēm bija mazāks nekā pārējiem putniem grupā (Tukey's test, $P < 0.001$). Būtiska negatīva sakarība tika konstatēta starp muskuļu indeksu un heterofīlo leikocītu skaitu ($r_s = -0.48$, $P < 0.001$), un muskuļu indeksu un H/L attiecību ($r_s = -0.54$, $P < 0.001$), kamēr attiecība starp muskuļu indeksu un limfocītu skaitu bija būtiski pozitīva ($r_s = 0.41$, $P < 0.001$).

Stresa stāvokļa ilgums un hematoloģiskie rādītāji (IV)

Tika konstatēta būtiska un pozitīva stresa stāvokļa ilguma ietekme uz ziemojošo lielo zīlīšu tēviņu heterofīlo leikocītu skaitu (one-way ANOVA, $F_{3,92} = 28.62$, $P < 0.001$, 6. att.). Eksperimentos heterofīlo leikocītu skaits putniem paaugstinājās četrkārtīgi 120 minūtē pēc noķeršanas, salīdzinot ar putniem, kuriem ņēma asins paraugus 4 minūtē pēc noķeršanas. Visos testa dažādos laika intervālos, limfocītu skaits uzrādīja negatīvu būtisku pazemināšanos (one-way ANOVA, $F_{3,92} = 12.97$, $P < 0.001$, Fig. 6). Būtiskas atšķirības tika konstatētas grupām, kurām asinis tika ņemtas 4 un 60 minūtē (Tukey's test, $P < 0.05$), 4 un 120 minūtē (Tukey's test,

$P < 0.05$). Putniem ar asins ņemšanas laiku 60 un 120 minūtē pēc noķeršanas, atšķirības arī bija būtiskas (Tukey's test, $P < 0.05$). Visas četras lielo zīlīšu grupas uzrādīja būtisku un pozitīvu saistību starp paraugu ņemšanas laiku un H/L attiecību (one-way ANOVA, $F_{3,92} = 32.05$, $P < 0.001$, 6. att.). Taču netika konstatētas būtiska atšķirības paraugu grupās starp 4 un 30 minūti (Tukey's test, $P > 0.05$), 30 un 60 minūti (Tukey's test, $P > 0.05$). Lielo zīlīšu tēviņi uzrādīja negatīvu laika ietekmi uz eozinofilo leukocītu skaitu (one-way ANOVA, $F_{3,92} = 7.18$, $P < 0.001$, 6. att.).

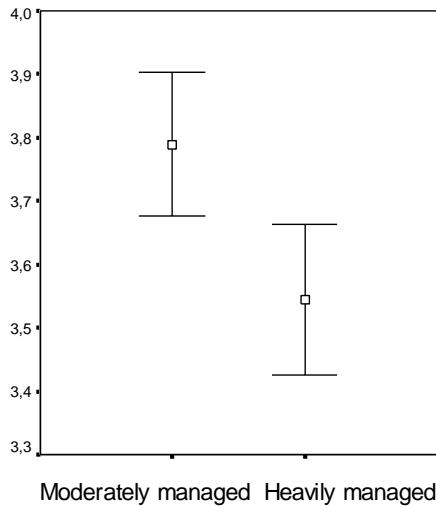


6. att. Heterofīlo leukocītu (a) un limfocītu (b) koncentrācijas izmaiņas, heterofīlo/limfocītu attiecība (H/L) (c), un eozinofīlo leukocītu (d) koncentrācija ņemot asins paraugus vienu reizi 4, 30, 60 un 120 minūtēs pēc noķeršanas četrām lielo zīlīšu tēviņu grupām. * - $P < 0.05$.

Būtiska eozinofīlo leukocītu skaita samazināšanās tika konstatēta starp zīlīšu grupām, kurām asinis ņēma 4 un 60 minūtē (Tukey's test, $P < 0.05$), 4 un 120minūtē (Tukey's test, $P < 0.05$), 30 un 120 minūtē (Tukey's test, $P < 0.05$), 60 un 120 minūtē pēc noķeršanas (Tukey's test, $P < 0.05$, 6. att.).

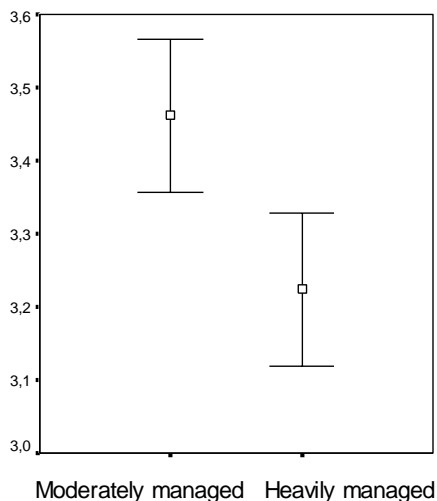
Leikocītu skaits, vairošanās sekmes un biotopa ietekme (V)

Biotopa un dzimuma ietekme uz kopējo leikocītu skaitu nebija būtiska, kas norāda, ka leikocītu skaits Sibīrijas zīlītei ir līdzīgs, ligzdojot gan vidēji, gan stipri apsaimniekotās meža platībās. Tomēr Sibīrijas zīlītes no stipri apsaimniekotām mežu platībām uzrādīja lielāku heterofīlo leikocītu skaitu, nekā zīlītes no vidēji apsaimniekotiemi mežiem. Sibīrijas zīlīšu mātītēm tika konstatēts lielāks heterofīlo leikocītu daudzums, nekā tēviņiem, taču atšķirība nebija būtiska. Biotopa un dzimuma savstarpējā iedarbība bija būtiska un tas norādīja uz vērā ņemamām atšķirībām starp dzimumiem dažādos biotopos. Biotopa un dzimuma ietekme uz H/L attiecību bija ļoti būtiska, kas īpaši pieauga putniem stipri apsaimniekotā vidē, būtiski augstāka mātītēm, nekā tēviņiem. Biotopa un dzimuma savstarpējā iedarbība arī bija ļoti būtiska. Eozinofīlo leikocītu koncentrācija uzrādīja būtisku atšķirību starp dažādiem biotopiem, kamēr atšķirības starp tēviņiem un mātītēm nebija izteiktas. Būtiska biotopa un dzimuma mijiedarbība norāda ar dzimumu saistītām eozinofīlo leikocītu koncentrācijas atšķirībām dažādos biotopos. Vidēji apsaimniekotos mežos putnu mazuļiem tika konstatēts būtiski augstāks leikocītu skaits, nekā mazuļiem stipri apsaimniekotos mežos ($F_{1,50} = 8.94$, $p = 0.004$, 7. att.).



7. att. Kopējā leikocītu skaita salīdzinājums 9-12 dienu veciem Sibīrijas zīlīšu mazuļiem vidēji un stipri apsaimniekotos biotopos.

Vidēji apsaimniekotās mežu platībās putnu mazuļiem arī limfocītu koncentrācija bija augstāka ($F_{1,50} = 9.76$, $p = 0.003$, 8. att.).



8. att. Limfocītu koncentrācijas salīdzinājums 9-12 dienu veciem Sibīrijas zīlīšu mazuļiem vidēji un stipri apsaimniekotos mežos.

Pretēji kopējā leikocītu skaita rezultātiem un limfocītu koncentrācijai, heterofīlo leikocītu koncentrācija putnu mazuļiem ($1.55 \pm 0.88 \log_{10}(\text{heterofīlie}/10^4 \text{ eritrocītiem})$ (vid.aritm. \pm SD) vs $1.21 \pm 0.89 \log_{10}(\text{heterofīlie}/10^4 \text{ eritrocītiem})$ (vid.aritm. \pm SD)) un mazuļu H/L attiecība ($-1.94 \pm 0.85 \log_{10}(\text{H/L})$ (vid.aritm. \pm SD) vs $(-1.95 \pm 1.03 \log_{10}(\text{H/L})$ (vid.aritm. \pm SD)) neatšķirās starp dažādiem biotopiem ($F_{1,50} = 1.85$, $p = 0.18$ heterofīlo leikocītu koncentrācijai $F_{1,50} = 0.001$, $p = 0.97$, H/L).

DISKUSIJA

Ziemas stress un dzimumu specifiskā izdzīvošana sociālajās grupās

Ekstremāli zemas temperatūras rada ļoti būtisku fizioloģisko stresu. Promocijas darba pētījuma rezultāti ļāva viennozīmīgi secināt, ka stresa pilnos apstākļos, lielo zīlīšu ekoloģiskais kompromiss starp badošanās un plēsonības risku, iespējams, bija atkarīgs no ķermeņa masas, jo putni, pie ekstremāli zemiem temperatūras apstākļiem, to optimizēja attiecībā pret gaisa temperatūras svārstībām. Rezultāti arī parādīja, ka ekstremālos ziemas apstākļos indivīdu enerģijas rezerves apkārtējas vides apstākļi būtiski resursu pieejamību neierobežoja. Lielās zīlītes, kā dominējoši strukturēta bara locekļi, bija spējīgas pārņemt adaptīvas stratēģijas, lai palielinātu savu izdzīvošanu (kā individuālās ģenētiskās pielāgotības komponenti) optimizējot ķermeņa resursu apjomu. Tas parāda, ka sugas iekšienē valdošā konkurence ietekmē putnu stratēģijas daudz vairāk nekā ārējās vides faktori. Lielāka stratēģiju izvēles brīvība tika konstatēta dominantajiem indivīdiem. To prioritārās iespējas izmantot barības resursus, palielināja to barošanās efektivitāti, jo samazināja to badošanās varbūtību. Tas arī nozīmēja, ka dominante indivīdu fizioloģiskais stāvoklis bija labāks laikā, kad tie no rīta pameta savus būrišus, izvēloties tam brīdim mazāk riskanto barošanās stratēģiju (I, II).

Rezultāti pierādīja, ka dominantie putni no rīta bija labākā stāvoklī nekā subdominantie grupas locekļi, par ko liecināja dominantu zemākā H/L attiecība (III). Pretstatā tam, subdominantajiem indivīdiem bija jāizstrādā stratēģija, kura visas dienas garumā pazemināja to badošanās risku uz plēsonības riska palielināšanās rēķina (Krams 2002). Subdominantajiem indivīdiem, palielinot to ķermeņa enerģijas rezerves, iespējams, paaugstinājās fizioloģiskais stress, par ko liecināja to augstāka H/L attiecība, īpaši pie ekstremāli zemām vides temperatūrām (III). Tādējādi, šis pētījums turpināja iepriekšējos darbus par Latvijas lielās zīlītes populāciju un arī virkni citu pētījumu par sociālo attiecību strukturētajām grupām, kur visiem sociālajiem indivīdiem pie nosacīti zema enerģijas patēriņa un augstiem barības pieejamības apstākļiem, bija iespēja uzturēt zemākas ķermeņa rezerves (Lima 1986; Gosler and Carruthers 1999). Taču enerģijas prasības ievērojami pieauga tieši aukstuma perioda bargajos apstākļos, kad ziemeļu platuma grādos dramatiski krītas apkārtējās vides temperatūra, un tas mēdz notikt bieži. Pie zemas apkārtējās vides temperatūras, pieauga prasības pēc enerģijas un badošanās risks ar plēsonības risku izlīdzinājās un abi riski kļuva vienādi neparedzami (Houston et al. 1993; Cuthill et al. 2000). Tas, iespējams, varētu izskaidrot dominante indivīdu palielinātās enerģijas rezerves (kā pierādījumu tam var minēt dominantu lielāku vakara ķermeņa masas indeksu BWI) (I, II). Šis pētījums arī apstiprināja optimālās ķermeņa masas hipotēzi, pierādot, ka papildus rezerves sekmēja izvairīšanos no badošanās riska, kamēr mazāk riskanta barošanās laika izvēle, palīdzēja izvairīties arī no plēsonības riska. Rezultāti pierādīja, ka barošanās stratēģijas lielākoties bija atkarīgas no putnu sociālā ranga, tāpēc jebkura letāla apkārtējās vides temperatūras

ietekme uz dominantajiem putniem netika konstatēta. Viens izskaidrojums tam varētu būt, ka pētījuma laikā temperatūras svārstībām bija pārāk šaura amplitūda starp vidējiem un īpaši zemiem temperatūras apstākļiem. Otrs, ticamākais izskaidrojums - ka dominantie indivīdi nepielāgoja savas enerģijas rezerves pakāpeniskām apkārtējās vides temperatūras svārstībām. Tā vietā, temperatūrai sasniedzot noteiktu sliekšni, tie mainīja savu barošanās stratēģiju, uzkrājot tik daudz zemādas tauku rezerves, cik vien iespējams, lai tiktu galā ar smagiem un neparedzamiem ziemas apstākļiem (Krams et al. 2010)

Subdominanto putnu ķermeņa enerģijas rezerves un barošanās stratēģijas ne vienmēr varēja izskaidrot ar optimālās ķermeņa masas modeli. Lai gan subdominantie putni varēja baudīt dažas priekšrocības, galvenokārt, uz kopējās vispārēji pastiprinātās modrības rēķina, kas samazina plēsonības risku, tomēr sociālā vide radīja citus negatīvus aspektus – iekšsugas konkurenci par barošanās un nakšņošanas vietām. Šo negatīvo aspektu izpausmes pieauga pie ekstremāliem ziemas laika apstākļiem, un tas bija potenciāls cēlonis novērotajiem sešiem mātīšu bojāejas gadījumiem. Jaunākie pētījumi liecina, ka ekstremālos ārējās vides apstākļos, lielo zīlīšu noteikti veselības hematoloģiskie parametri un ķermeņa rezerves var būt atkarīgas no putnu dzimuma un vecuma (Krams et al. 2011). Tika konstatēts, ka ziemas aukstajā laikā, lielo zīlīšu mātīšu H/L attiecība, kā stresa indikators, bija būtiski paaugstināta. Īpaši jaunajām subdominantajām mātītēm bija visaugstākais fizioloģiskā stresa līmenis (II). Lai gan jauno mātīšu palielināto mirstību varētu izskaidrot tikai ar to, ka dominantie indivīdi monopolizēja resursus (II), tomēr nākotnes pētījumos arī apspalvojuma kvalitātes izmaiņas būtu jāņem vērā. Ir dati, kas liecina, ka jaunajām putnu mātītēm ir plānāks apspalvojums, kā dominantajiem putniem (Mayer et al. 1982; Reinertsen and Haftorn 1986; Broggi 2006; Broggi et al. 2011). Tādejādi varētu pieņemt, ka iespējami vājāka spalvu izolācijas spēja un vienlaicīgi augstās termoregulācijas izmaksas (e.g. Nilsson et al. 2011) neskatoties uz nebūtiskām ķermeņa svārstībām un BWI atšķirībām nakts sākumā, varētu izskaidrot, kāpēc mātītes, kuras neizdzīvoja, uzrādīja augstāku ķermeņa masas un BWI zudumu, salīdzinot ar tā paša ranga kategorijas izdzīvojušām mātītēm (I, II).

Pētījuma rezultāti parādīja, ka subdominanto indivīdu, īpaši, jauno mātīšu, badošanās spējas bija vājas (II). Ir zināms, ka tādām daļēji migrējošām sugām, kā lielās zīlītes, daži putni mēdz migrēt, kamēr populācijas pārējā daļa rudenī nekur nelido (Lack 1944; Gautreaux 1980; Gautreaux 1982). Lielo zīlīšu mātītes un jaunie putni parasti veidoja migrantu vairumu (Gautreaux 1980). Šis promocijas darbs, ņemot vērā konstatēto jauno mātīšu palielināto mirstības, sniedz pierādījumus „ķermeņa izmēru hipotēzei” (Ketterson and Nolan 1976), un arī „dominances hipotēzei”, jo jaunās mātītes ir subdominanti indivīdi zīlīšu sociālajās grupās (Kalela 1954; Gautreaux 1980; Sutherland and Parker 1985). Abas hipotēzes paredz, ka sugām, kurām tēviņi ir lielāki par mātītēm un augstāki sociālajā hierarhijā, migrēt vajadzētu vairāk mātītēm, nekā tēviņiem. Rezultāti parādīja, ka uz migrāciju balstītie modeļi, radītu mātītēm mazākas fizioloģiskās

izmaksas, salīdzinot ar iespēju pavadīt zimu ziemeļu platuma grādos, kur to zemākais stāvoklis grupas sociālajā hierarhijā, ierobežotā pieeja barības resursiem un lielāki enerģijas izdevumi, būtu izaicinājums izdzīvošanai, radot augstāku fizioloģisko stresu (III) un zemākas izdzīvošanas iespējas ziemas laikā (Krams et al. 2011; Cīrule et al. 2012) (I, II).

Leikocītu skaita ātrās izmaiņas stresa apstākļos

Dabas aizsardzībā fizioloģisko procesu izpratnei leikocitārā formula ir īpaši noderīga, jo tā dinamiski mainās stresa iespaidā un to var tieši saistīt ar stresa hormonu līmeni organismā. Uz to norādīja Dhabhar et al. (1996), izmantojot leikocītu koncentrācijas zīdītāju stresa izpētes laikā jau 1940 gadā, pirms kļuva pieejamas tiešās plazmas glikokortikoīdu noteikšanas metodes. Pretēji hormonu atbildes reakcijai uz stresu, tika uzskatīts, ka leikocītārās izmaiņas uz stresu varētu konstatēt pēc vairākām stundām vai pat dienām (Davis et al. 2008; Krams et al. 2011).

No iepriekšējiem pētījumiem bija zināms, ka parasti putniem leikocītu koncentrācijas izmaiņas parādās ne agrāk kā 1 stundu pēc manipulāciju veikšanas (Davis 2005). Tomēr šī pētnieciskā darba rezultāti (IV) pierādīja, ka leikocītu skaits var mainīties daudz straujāk, nekā iepriekš tika ziņots (Davis 2005; Krams et al. 2011). Laika intervālā starp 30 un 60 minūti pēc putnu noķeršanas, tika konstatēta būtiska heterofīlo leikocītu skaita palielināšanās un limfocītu skaita samazināšanās.

Heterofīlie leikocīti ir galvenie, tiešie fagocitārās funkcijas veicēji un reaģē uz infekciju, iekaisumu un stresu, palielinot cirkulējošo heterofīlu skaitu asinsritē (Jain 1993; Campbell 1995; Rupley 1997; Harmon 1998; Thrall 2004), kamēr limfocīti ir iesaistīti dažādās imunitātes funkcijās, tādās kā, imunoglobīnu radīšana un imunitātes aizsardzības veidošana (Campbell 1996). Glikokortikoīdi izraisa granulocītu, un tieši, heterofīlo leikocītu pieplūdumu asinīs no kaulu smadzenēm, un rada to ilgāku aizturi asins cirkulācijā, pirms tie migrē uz citiem audiem (Bishop et al. 1968). Pretēji tam, cirkulējošie limfocīti, reaģējot uz glikokortikoīdu klātbūtni, pielīp asinsvadu sienīņu endotēlijā šūnām un vēlāk migrē no asins cirkulācijas uz citiem audiem, kā piemēram, limfmezgliem, liesu, kaulu smadzenēm un ādu, kur tie arī tiek izmantoti (Fauci 1975; Dhabhar 2002). Limfocītu izceļošana no asinsrites, rada to būtisku samazinājumu cirkulējošo limfocītu skaitā. Līdzīgu skaita samazināšanos mēs konstatējam arī eozinofīlajiem leikocītiem. Eozinofīlo leikocītu skaita pazeminājums, iespējams, bija saistīts ar stresa radīto glikokortikoīdu klātbūtni un lielākoties par to iepriekš tika ziņots agrīnajos darbos par cilvēkiem un zīdītājiem (Hills et al. 1948; Gordon 1955; Cardinet et al. 1964). Domājams šīs heterofīlo, eozinofīlo leikocītu un limfocītu skaita izmaiņas šādi nodrošina to, ka, stresa atbildes reakcijas laikā, dažādi šūnu veidi cirkulē tur, kur tie nepieciešami (Maxwell 1987; Maxwell and Robertson 1998; Dhabhar et al. 1994; Dhabhar et al. 1996). Tādejādi, imunitātes atbildes reakciju uz akūtu stresu labāk atspoguļo heterofīlo, limfocītu, eozinofīlo skaits un H/L attiecība, nekā virsnieru hormonu noteikšana. Vai lietot leikocītu parametrus,

lai novērtētu putnu ķeršanas un manipulāciju stresa radīto glikokortikoīdu līmeņa paaugstināšanos, tas ir jautājums, ko vajadzētu pētīt, izmantojot tēviņu un mātīšu indivīdus vairošanās sezonas laikā un citos periodos.

Kad domājam par dzīvnieku labturību, stresa izvērtēšana tiem ir nozīmīgs faktors. Relatīvi lēns leukocītu atbildes reakcijas laiks dod iespēju iegūt asins paraugus bez stresa radītām leukocītu skaita izmaiņām un nav nepieciešams tos noņemt dažās minūtēs pēc putna noķeršanas. Vēl vairāk, pēc leukocītu parametriem var daudz ko uzzināt par indivīda veselības stāvokli (Acanfora et al. 2001; Ford 2002; Hauptmanova 2002; Moreno et al. 2002; Lobato et al. 2005; Al-Murrani et al. 2006; Kilgas et al. 2006; Krams et al. 2010), un tādejādi leukocītu izmantošanai dabas aizsardzības bioloģijā ir priekšrocības, kā arī plašākiem, ar dažādiem stresa jautājumiem saistītiem, ekoloģiskiem pētījumiem (Stevenson et al 2005; Wikelski and Cooke 2006) (IV). Promocijas darba rezultāti parādīja, ka laika atstarpe saistībā ar leukocītu atbildi uz stresu, var būt daudz īsāka, nekā agrāk tradicionāli tika uzskatīts. Tas būtu jāņem vērā, novērtējot dzīvniekiem leukocītu skaitu un nosakot stresa radītās agrīnās izmaiņas.

Ķermeņa indekss, hematoloģiskie rādītāji un vairošanās sekmes

Sibīrijas zīlītēm, vairojoties stipri apsaimniekotos mežos, bija augstāka heterofīlo leukocītu koncentrācija, zemāka limfocītu koncentrācija un augstāka H/L attiecība, kas norādīja uz augstāku stresa līmeni. Stipri apsaimniekotos mežos šiem putniem arī eozinofīlo leukocītu daudzums bija lielāks, kas tieši šajā biotopā lika domāt par augstāku infekcijas slimību pakāpi. Sibīrijas zīlītes, vairojoties vidēji apsaimniekotos mežos, bija labākā veselības stāvoklī nekā tās, kas vairojās stipri apsaimniekotos mežos. Tas norādīja uz tiešu saikni starp ziemeļu meža biotopa stāvokli un tajos mītošo dzīvnieku fizioloģisko stresu. Šī pētījuma rezultāti apstiprināja dažus citus pētījumus, kuros izmantoja hematoloģiskos rādītājus, lai pārbaudītu pieaugušo putnu veselības stāvokļa novirzes saistībā ar meža izciršanu vai to daļēju iznīcināšanu. Šie iepriekšējie pētījumi pierādīja modernās mežsaimniecības negatīvo ietekmi uz putnu vairošanos (Saari et al. 1994; Suorsa et al. 2003, 2004). Tomēr, no pētījuma laikā iegūtajiem datiem, netika konstatētas nekādas atšķirības starp Sibīrijas zīlīšu vairošanās sekmēm vidēji un stipri apsaimniekotos mežos. Citos iepriekšējos pētījumos pierādījās, ka stipri apsaimniekotu mežu zonas bija suboptimāls biotops un tas negatīvi ietekmēja mazuļu skaitu, ligzdošanas panākumus kopumā un mazuļu izmērus (Virkkala 1990). Šos savstarpēji pretrunīgos rezultātus varētu izskaidrot ar stabiliem klimatiskajiem apstākļiem šī pētījuma laikā, kas iespējams stipri apsaimniekotos mežu biotopos putniem palīdzēja izvairīties no augstāka fizioloģiskā stresa. Vidēji apsaimniekotos biotopos pieaugušo Sibīrijas zīlīšu labākais stāvoklis tika nodots arī uz pēcnācējiem, kas atspoguļojās putnu mazuļu labākā fizioloģiskajā stāvoklī. Tas, savukārt, ietekmēja jauno Sibīrijas zīlīšu tālāko attīstību un izvešanu no ligzdām. Tas nozīmē, ka šī jautājuma pētīšanu vajadzētu turpināt nākotnē.

Arī heterofīlo leukocītu un H/L attiecība starp dzimumiem uzrādīja ievērojamas atšķirības. Tēviņiem, starp vidēji un stipri apsaimniekotiemi mežiem, konstatēja būtisku šo rādītāju palielināšanos. Turpretīm zīlīšu mātītēm, vidēji un stipri apsaimniekotos mežos, heterofīlo leukocītu un H/L attiecības rādītāji bija divreiz augstāki, nekā tēviņiem. Lai gan līdz šim tika uzskatīts, ka, salīdzinot ar mātītēm, putnu tēviņiem ir vājāka imunitāte (Poulin 1996; Moreno et al. 2002; Zuk and Stoehr 2002), taču šajā promocijas darbā parādījās, ka mātītes, atšķirībā no tēviņiem, ir daudz sliktākā veselības stāvoklī ar lielāku imunoloģisko slodzi (Hörak et al. 1999; Ots et al. 1998). Iespējams, ka hematoloģiskajos rādītājos novērotās dzimumu atšķirības, ir saistītas ar olu dēšanas un perēšanas enerģētiskajām izmaksām, atšķirīgo vielmaiņu starp dzimumiem, kā arī ar mātīšu lielāko ieguldījumu pēcnācēju audzēšanā kopumā (Sanz et al. 2000; Visser and Lessells 2001; Wingfield and Kitaysky 2002; Kilgas et al. 2006). Trīs Sibīrijas tēviņu paraugos konstatētā paaugstinātā eozinofīlo leukocītu koncentrācija nav skaidra. To varētu saistīt ar kādu infekcijas slimību, vai paaugstinātu vairošanās stresa līmeni. Katrā ziņā, šos jautājumus nākotnē varētu pētīt daudz detalizētāk.

Stress un asins parazīti ligzdojošiem putniem

Savvaļā dzīvojošiem dzīvniekiem asins parazīti bieži izraisa hroniskas infekcijas ar recidīviem stresa situāciju laikā (Atkinson et al. 1988, Bennett et al. 1995), īpaši vairošanās periodā (Atkinson et al. 1988, Bennett et al. 1995), kad prasības pēc enerģijas būtiski pieaug. Putnu vairošanās laikā ļoti nozīmīgs faktors un resurss ir barība. Ziemeļu putniem, uzturoties vietās ar īsāku vasaras sezonu un neparedzamākiem laika apstākļiem īpaši mazuļu barošanas laikā, ir pieredze barības resursu nepietiekamības apstākļos, kad katra nākamā vairošanās stadija prasa lielāku ieguldījumu (Virkkala 1990; Sanz et al. 2000; Rytönen and Orell 2001; Rytönen and Krams 2003). Tādejādi, ziemeļu putniem vairošanās sezonas laikā, vajadzētu būt pakļautiem lielākam stresam uz pazeminātas imunitātes fona (Silverin et al. 1997), ko izraisa ilgstoša kortikosteroņa iedarbība, kas savukārt var novest pie augstākas parazītu infekcijas (Sheldon and Verhulst 1996; Boonekamp et al. 2008). Šī pētījuma iegūtie dati Somijas ziemeļos, kas ir pirmais parazitoloģiskais pētījums par Sibīrijas zīlītēm vispār, neatklāja tiešu sakarību starp augstāku vairošanās stresu un paaugstinātu parazitēmijas līmeni (V). Iegūtie rezultāti skaidri parādīja, ka Sibīrijas zīlīšu asins parazītu skaits ir saistīts ar attālumu līdz tuvākai upei, kur vairojas knišļi (Diptera: Siimulidae), kā slimības pārnēsātājs un vektors, kā arī biotopa kvalitāti, un mazāk ar stresu (Adler et al. 1999; Moreno et al. 2008). Lai gan parasti tika uzskatīts, ka asins parazīti vieglāk invadē to indivīdu perifērās asinis, kuru imunitāte ir novājināta, tomēr Sibīrijas zīlītēm netika konstatēta šāda saistību, drīzāk radās doma, ka putniem ar stresa starpniecību aktivizētā imunitāte drīzāk pazemina, nevis paaugstina parazītu skaitu. Leikocīti organismā ir atbildīgi par fagocitozi un par iekaisuma atbildes reakcijām, kā arī par imūnsistēmas atbildi uz parazītu izraisītu stresu. Tā kā pētījumā saistībā ar parazītu klātbūtni netika konstatētas nekādas būtiskas leukocītu koncentrācijas

izmaiņas, tad tika secināts, ka Sibīrijas zīlītēm, vairošanās sezonas laikā pie stabila klimata, asins parazīti nav nozīmīgi. Tomēr, būtu nepieciešams daudz detalizētāks pētījums, kas, modernās mežsaimniecības apstākļos - biotopa kvalitātes pasliktināšanās un mežu daļēju izciršana, varētu atklāt iespējamo saistību starp parazītu iedarbību un vairošanās procesu.

Saistībai starp parazītiem un to saimnieku acīmredzot var izskaidrot pilnīgu asins parazītu trūkumu pelēkās zīlītes, *Poecile montanus* asinīs vairošanās sezonā Somijas ziemeļdaļā (Rytkönen et al. 1996). Konstatētais fakts, ka *Leucocytozoon* un *Trypanosoma* parazīti vienmēr sastopami kopā, dod iespēju apgalvot, ka abus asins parazītus pārnēsā viens un tas pats vektors. Tomēr tripanosomas infekcija var tikt pārnesta arī ar citiem vektoriem, tādiem kā, miģeles un odi. Ziemeļu Somija ir bagāta ar šiem vektoriem un šis pētījums parādīja, ka Sibīrijas zīlītes populācijā parazītu izplatība 80% līmenī nav nekāds pārsteigums. Tā kā parazītu izplatības līmenis Ziemeļeiropas dienvidu daļā ir daudz zemāks, tad šī pētījuma rezultāti atbalstīja domu, ka putnu asins parazītu izplatība ir lielāka augstāka ziemeļos, kamēr dienvidos varētu būt lielāka asins parazītu bioloģiskā daudzveidība.

KOPSAVILKUMS

Šajā pētījumā tika uzdoti daži jautājumi attiecībā uz vairošanās bioloģiju un biotopu kvalitāti, izdzīvošanu ziemā un sociālo grupu hierarhijas ekoloģisko nozīmi. Tas viss ietilpst vienā kopējā tēmā – izdzīvošana un dabiskā atlase stresa apstākļos. Šī darba galvenais secinājums ir tāds, ka apkārtējās vides stress rada dažādas izdzīvošanas iespējas indivīdiem ar fizioloģiskā stāvokļa atšķirībām, kurus ietekmē to sociālie rangi (I, II, III) un biotopa kvalitāte (V).

Lai novērtētu stresu, pētnieki parasti izmanto divas plazmas glikokortikoīdu līmeņa vērtības: sākuma līmeni pirms dzīvnieka noķeršanas, un paaugstināto līmeni, kas rodas stresa atbildes laikā. Abi šie mērījumi nodrošina informāciju atbilstoši dzīvnieka stresa fizioloģijai. Parasti nav problēmu noņemt asins paraugu stresa fāzes līmeņa paaugstinājuma laikā, daudz grūtāk pēc putna noķeršanas noņemt asins paraugu tieši pirms šī fāze ir sākusies. Vairumā sugu šis laiks precīzi nav zināms, bet jaunākie literatūras dati liecina, ka parasti hormonu pieplūdums asinīm sākas nekavējoties - tas ilgst līdz dažām minūtēm, bet sākas jau 2 min pēc putna noķeršanas. Līdz šim pētījumi ar putniem parādīja relatīvi lēnu leikocītu atbildes reakciju uz stresu, kas padarīja asins šūnu paraugu iegūšanu pirms stresa līmeņa izpausmes asinīs par ļoti ērtu. Promocijas darba pētījums pierādīja, ka fizioloģiskais stāvoklis, izvērtēts ar hematoloģisko parametru palīdzību, tomēr mainās daudz ātrāk, kā iepriekš tika domāts (IV). Ekoloģijā tas ir daudz drošāks veids, kā noteikt agrīnās stresa pazīmes potenciālo problēmu izvērtēšanai populācijās (III), līdz ar to, padarot hematoloģisko metodi dabas aizsardzības bioloģijā par pieņemamāku un populārāku. Bez papildus laika iegūtajām priekšrocībām paraugu noņemšanā, hematoloģisko parametru izmantošana, dod virkni citu priekšrocību. Pirmkārt, šī metode ir samērā lēta, jo nepieciešami ir tikai priekšmetstikliņi, krāsa un gaismas mikroskops. Otrkārt, asins uztriepes izgatavošanai nepieciešamais asins daudzums ir daudz mazāks, kā nepieciešams kortikosteroīdu analīzēm. Tomēr problēmas var radīt labi sagatavoto speciālistu – dzīvnieku hematologu trūkums.

Šis ir pirmais pētījums, kas noteica, vai meža apsaimniekošana ietekmē Sibīrijas zīlīšu vairošanās sekmes, hematoloģiskos rādītājus un asins parazītus, kā arī to mazuļu hematoloģiskos parametrus (V). Rezultāti parādīja biotopa kvalitātes nozīmi vairošanās laikā, modernās mežsaimniecības stipri degradētajā ziemeļu taigā. Tas varētu izskaidrot, kāpēc pēdējā desmitgadē abos kontinentos un visās valstīs, kur šī putnu suga ir sastopama, Sibīrijas zīlīšu skaits ir būtiski samazinājies. Lietojot nosacīti vienkāršu un samērā lēnu hematoloģisko metodi, kas skaidri pierādīja savu efektivitāti, pētījums atklāja, ka putniem vairošanās laikā un to pēcnācējiem, ir konstatēts nopietns stress. Līdz šim pirmais pētījums, kas vēltīts Sibīrijas zīlītes asins parazītiem atklāja, ka parazītārās infekcijas izplatība un intensitāte ir atkarīga no šo infekciju vektoru blīvuma (V). Nobeigumā jāsaprot, ka pētījumā iegūtie rezultāti parādīja, ka mēs vēl esam tālu no pilnīgas jautājuma izpratnes par asins parazītu lomu putnu vairošanās bioloģijā.

SECINĀJUMI

- Stresa apstākļos, lielo zīlīšu ekoloģiskais kompromiss starp badošanās un plēsonības risku, iespējams, bija atkarīgs no ķermeņa masas, jo putni, pie ekstremāli zemiem temperatūras apstākļiem, to optimizēja attiecībā pret gaisa temperatūras svārstībām;
- Dominanto indivīdu palielinātās enerģijas rezerves apstiprināja optimālās ķermeņa masas hipotēzi, pierādot, ka papildus rezerves sekmēja izvairīšanos no badošanās riska, kamēr mazāk riskanta barošanās laika izvēle, palīdzēja izvairīties arī no plēsonības riska;
- Kompromiss starp badošanos un plēsonības risku, iespējams, ir ķermeņa masas atkarīgs, tā kā indivīdi optimizē to ķermeņa masu pat pie īpaši ekstremāliem apstākļiem;
- Dominanti strukturētiem putnu īpatņiem ir iespējams adaptēt to uzvedības stratēģijas maksimizējot to individuālo ģenētisko pielāgotību ar ķermeņa masas optimizēšanu;
- Iekšsugas konkurence ir daudz spēcīgāks ierobežojošs faktors uz putnu uzvedības stratēģiju nekā apkārtējās vides apstākļi;
- Leikocītu skaita izmaiņas tika konstatētas daudz ātrāk nekā iepriekš tika uzskatīts. Tas dod iespēju uzskatīt ka hematoloģisko parametru izmaiņas ir derīgs rādītājs stresa līmeņa izmaiņām;
- Lai gan šis pētījums nesalīdzināja hormonālo un hematoloģisko atbildes reakciju putniem pie stresa, tomēr rezultāti skaidri parādīja, ka H/L attiecība ir drošs stresa mērīšanas paņēmiens, īpaši pie hroniska stresa;
- Sibīrijas zīlītēm, vairojoties stipri apsaimniekotos mežos, bija augstāka heterofīlo leikocītu koncentrācija, zemāka limfocītu koncentrācija un augstāka H/L attiecība, kas norādīja uz augstāku stresa līmeni. Savukārt tas norādīja uz tiešu saikni starp ziemeļu meža biotopa stāvokli un tajos mītošo dzīvnieku fizioloģisko stresu;
- Heterofīlo leikocītu un H/L attiecība starp dzimumiem uzrādīja ievērojamas atšķirības. Zīlīšu mātītēm, vidēji un stipri apsaimniekotos mežos, hematoloģiskie parametri bija divreiz augstāki, nekā tēviņiem. Mātītes, atšķirībā no tēviņiem, ir daudz slīktākā veselības stāvoklī ar lielāku imunoloģisko slodzi;
- Sibīrijas zīlītes parazitārās infekcijas izplatība un intensitāte ir atkarīga no šo infekciju vektoru blīvuma;
- Tieša saikne starp leikocītu skaita izmaiņām un Sibīrijas zīlītes asins parazītiem netika konstatēta uzvedinot uz domām ka attiecības starp parazītu un saimnieka imūnsistēmu ir daudz sarežģītākas nekā iepriekš tika domāts.

LITERATŪRAS SARAKSTS

- Acanfora, D., Gheorghiadu, M., Trojano, L., Furgi, G., Pasini, E., Picone, C., Papa, A., Iannuzzi, G. L., Bonow, R. O., Rengo, F. 2001 Relative lymphocyte count: A prognostic indicator of mortality in elderly patients with congestive heart failure. *American Heart Journal* 142, 167-173.
- Adamo, S. A. 2004 How should behavioural ecologists interpret measurements of immunity? *Animal Behaviour* 68, 1443-1449.
- Adler, P. H., Malmqvist, B. & Zhang, Y. 1999 Black flies (Diptera: Simuliidae) of northern Sweden: taxonomy, chromosomes, and bionomics. *Entomologica Scandinavica* 29, 361-382.
- Al-Murrani, W. K., Al-Rawi, A. J., Al-Hadithi, M. F. & Al-Tikriti, B. 2006 Association between heterophil/lymphocyte ratio, a marker of 'resistance' to stress, and some production and fitness traits in chickens. *British Poultry Science* 47, 443-448.
- Atkinson, C. T., Forrester, D. J. & Greiner, E. C. 1988 Pathogenicity of *Haemoproteus meleagridis* (Haemosporina: Haemoproteidae) in experimentally infected domestic turkeys. *Journal of Parasitology* 74, 228-239.
- Barlein, F. 1995 European-African songbird migration network. Manual of field methods: European Science Foundation, Wilhelmshaven.
- Bennett, G. F. 1970 Simple techniques for making avian blood smears. *Canadian Journal of Zoology* 48, 585-586.
- Bennett, G. F., Squiresparsons, D., Siikamaki, P., Huhta, E., Allander, K. & Hillstrom, L. 1995 A comparison of the blood parasites of three Fennoscandian populations of the Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca*. *Journal of Avian Biology* 26, 33-38.
- Bishop, C. R., Athens, J. W., Boggs, D. R., Warner, H. R., Cartwright, G & Wintrobe, M. M. 1968 Leukokinetic studies. 13. A non-steady-state kinetic evaluation of mechanism of cortisone-induced granulocytosis. *Journal of Clinical Investigation* 47, 249-260.
- Boonekamp, J. J., Ros, A. H. F. & Verhulst, S. 2008 Immune activation suppresses plasma testosterone level: a meta-analysis. *Biology Letters* 4, 741-744.
- Broggi, J. 2006 Patterns of variation in energy management in wintering tits (Paridae). *Acta Universitatis Ouluensis* 467, 15-49.
- Broggi, J., Gamero, A., Hohtola, E., Orell, M. & Nilsson, J.-Å. 2011 Interpopulation variation in contour feather structure is environmentally determined in Great tits. *PLoS ONE* 6, e24942.

- Buchanan, K. L. 2000 Stress and the evolution of condition-dependent signals. *Trends in Ecology and Evolution* 15, 156-160.
- Campbell, T. W. 1995 Avian hematology and cytology. Ames, Iowa State University Press.
- Campbell, T. W. 1996. Reptile medicine and surgery. In: (ed. Mader, D. R.) *Clinical pathology*. Philadelphia: Saunders, pp 248-257
- Cardinet, G. H., Littrell, J. F. & Schalm, O. W. 1964 Effects of sustained muscular activity upon blood morphology of the horse. *California Veterinary* 18, 31-35.
- Čirule, D., Krama, T., Vrublevska, J., Rantala, M. & Krams, I. 2012 A rapid effect of handling on counts of white blood cells in a wintering passerine bird: a more practical measure of stress? *Journal of Ornithology* 153, 161-166.
- Cuthill, I. C., Maddocks, S. A., Weall, C. V. & Jones, E. K. M. 2000 Body mass regulation in response to changes in feeding predictability and overnight energy expenditure. *Behavioral Ecology* 11, 189-195.
- Davis, A. K. 2005 Effects of handling time and repeated sampling on avian white blood cell counts. *Journal of Field Ornithology* 76, 334-338.
- Davis, A. K., Maney, D. L. & Maerz, J. C. 2008 The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology* 22, 760-772.
- Dein, F. J. 1986 Hematology. In *Clinical avian medicine and surgery* (ed. B. G. H. Harrison & L. R. Harrison), pp. 174-191: WB Sander, Philadelphia.
- Dhabhar, F. S. 2002 A hassle a day may keep the doctor away: Stress and the augmentation of immune function. *Integrative and Comparative Biology* 42, 556-564.
- Dhabhar, F. S., Miller, A. H., McEwen, B. S. & Spencer, R. L. 1996 Stress-induced changes in blood leukocyte distribution - Role of adrenal steroid hormones. *Journal of Immunology* 157, 1638-1644.
- Dhabhar, F. S., Miller, A. H., Stein, M., McEwen, B. S. & Spencer, R. L. 1994 Diurnal and acute stress induced changes in distribution of peripheral blood leukocyte subpopulations. *Brain Behavior and Immunity* 8, 66-79.
- Ekman, J. B. & Askenmo, C. E. H. 1984 Social rank and habitat use in Willow tit groups. *Animal Behaviour* 32, 508-514.
- Ekman, J. B. & Lillendahl, K. 1993 Using priority to food access: fattening strategies in dominance-structured Willow tit (*Parus montanus*) flocks. *Behavioral Ecology* 4, 232-238.
- Fauci, A. S. 1975 Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations 1. Redistribution of circulating T-lymphocytes and B-lymphocytes to bone marrow. *Immunology* 28, 669-680.

- Ford, E. S. 2002 Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, and diabetes incidence in a national sample of US adults. *American Journal of Epidemiology* 155, 57-64.
- Fortuna, M. A. & Bascompte, J. 2006 Habitat loss and the structure of plant-animal mutualistic networks. *Ecology Letters* 9, 281-286.
- Gautreaux, S. A. J. 1980 *Animal migration, orientation, and navigation*. New York: Academic Press.
- Gautreaux, S. A. J. 1982 *The ecology and evolution of avian migration systems*. Avian biology. New York: Academic Press.
- Gill, F. B., Slikas, B., Sheldon, F. H. & Fleischer, R. C. 2005 Phylogeny of titmice (Paridae): II. Species relationships based on sequences of the mitochondrial cytochrome-b gene. *The Auk* 122, 121-143.
- Gordon, A. S. 1955 Some aspects of hormonal influences upon the leukocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences* 59, 907-927.
- Gosler, A. & Carruthers, T. 1999 Body reserves and social dominance in the Great tit *Parus major* in relation to winter weather in southwest Ireland. *Journal of Avian Biology* 30, 447-459.
- Gosler, A. G. 1996 Environmental and social determinants of winter fat storage in the Great tit *Parus major*. *Journal of Animal Ecology* 65, 1-17.
- Griesser, M., Nystrand, M., Eggers, S. & Ekman, J. A. N. 2007 Impact of forestry practices on fitness correlates and population productivity in an open-nesting bird species *Conservation Biology* 21, 767-774.
- Gustafson, E. & Parker, G. 1992 Relationships between landcover proportion and indices of landscape spatial pattern. *Landscape Ecology* 7, 101-110.
- Harmon, B. G. 1998 Avian heterophils in inflammation and disease resistance. *Poultry Science* 77, 972-977.
- Hauptmanova, K., Literak, I. & Bartova, E. 2002 Haematology and leukocytozoonosis of Great tits (*Parus major* L.) during winter. *Acta Veterinaria Brunensis* 71, 199-204.
- Hawkey, C. M. & Dennett, T. B. 1989 *Color atlas of comparative veterinary hematology*. Ames: Iowa State University Press.
- Helms, C. W. 1968 Food, fat and feathers. *American Zoologist* 8, 151-167.
- Hills, A. G., Forsham, P. H. & Finch, C. A. 1948 Changes in circulating leukocytes induced by the administration of pituitary adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in man. *Blood* 3, 755-768.
- Hörak, P., Tegelmann, L., Ots, I. & Moller, A. P. 1999 Immune function and survival of great tit nestlings in relation to growth conditions. *Oecologia* 121, 316-322.
- Houston, A. I., McNamara, J. M. & Hutchinson, J. M. C. 1993 General results concerning the trade-off between gaining energy and avoiding predation.

Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences 341, 375-397.

- Houwen, B. 2002 Blood film preparation and staining procedures. *Laboratory Hematology* 22, 1-7.
- Jain, N. C. 1993 *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Blackwell.
- Kalela, O. 1954 Populations Okologiske Gesichts- punkte zur Entstehung des Vogelzuges. In *Ann Zool Soc Vanarno (Helsinki)*, vol. 16, pp. 1-30. Helsinki.
- Ketterson, E. D. & Nolan, V. 1976 Geographic variation and its climatic correlates in the sex ratio of eastern-wintering Dark-eyed juncos (*Junco hyemalis hyemalis*). *Ecology* 57, 679-693.
- Kilgas, P., Mänd, R., Mägi, M. & Tilgar, V. 2006 Hematological parameters in brood-rearing great tits in relation to habitat, multiple breeding and sex. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 144, 224-231.
- Kilgas, P., Tilgar, V. & Mand, R. 2006 Hematological health state indices predict local survival in a small passerine bird, the Great tit (*Parus major*). *Physiological and Biochemical Zoology* 79, 565-572.
- Knowles, S. C. L., Palinauskas, V. & Sheldon, B. C. 2010 Chronic malaria infections increase family inequalities and reduce parental fitness: experimental evidence from a wild bird population. *Journal of Evolutionary Biology* 23, 557-569.
- Koivula, K., Orell, M. & Rytönen, S. 1996 Winter survival and breeding success of dominant and subordinate Willow tits *Parus montanus*. *Ibis* 138, 624-629.
- Koolhaas, J. M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., de Boer, S. F., Flügge, G., Korte, S. M., Meerlo, P., Murison, R., Olivier, B., Palanza, P., Richter-Levin, G., Sgoifo, A., Steimer, T., Stiedl, O., van Dijk, G., Wöhr, M. & Fuchs, E. 2011 Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35, 1291-1301.
- Krams, I. 2002 Mass-dependent take-off ability in wintering Great tits (*Parus major*): comparison of top-ranked adult males and subordinate juvenile females. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 51, 345-349.
- Krams, I., Cirule, D., Krama, T., Hukkanen, M., Rytönen, S., Orell, M., Iezhova, T., Rantala, M. J. & Tummelleht, L. 2010 Effects of forest management on haematological parameters, blood parasites, and reproductive success of the Siberian tit (*Poecile cinctus*) in northern Finland. *Annales Zoologici Fennici* 47, 335-346.
- Krams, I., Cirule, D., Suraka, V., Krama, T., Rantala, M. J. & Ramey, G. 2010b Fattening strategies of wintering Great tits support the optimal body mass hypothesis under condition of extremely low ambient temperature. *Functional Ecology* 24, 172-177.

- Krams, I., Cīrule, D., Krama, T. & Vrublevska, J. 2011 Extremely low ambient temperature affects haematological parameters and body condition in wintering Great tits (*Parus major*). *Journal of Ornithology* 152, 889-895.
- Krams, I. A., Krams, T. & Cernihovics, J. 2001 Selection of foraging sites in mixed Willow and Crested tit flocks: rank-dependent survival strategies. *Ornis Fennica* 78, 1-11.
- Lack, D. 1944 The problem of partial migration. *British Birds* 37, 122-130.
- Lima, S. L. 1986 Predation risk and unpredictable feeding conditions: determinants in body mass in birds. *Ecology* 67, 377-385.
- Lobato, E., Moreno, J., Merino, S., Sanz, J. J. & Arriero, E. 2005 Haematological variables are good predictors of recruitment in nestling Pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*). *Ecoscience* 12, 27-34.
- Lorch, P. D., Proulx, S., Rowe, L. & Day, T. 2003 Condition-dependent sexual selection can accelerate adaptation. *Evolutionary Ecology Research* 5, 867-881.
- Mänd, R., Tilgar, V., Kilgas, P. & Mägi, M. 2007 Manipulation of laying effort reveals habitat-specific variation in egg production constraints in Great tits (*Parus major*). *Journal of Ornithology* 148, 91-97.
- Marzal, A., Bensch, S., Reviriego, M., Balbontin, J. & De Lope, F. 2008 Effects of malaria double infection in birds: one plus one is not two. *Journal of Evolutionary Biology* 21, 979-987.
- Marzal, A., Lope, F. d., Navarro, C. & Møller, A. P. 2005 Malarial parasites decrease reproductive success: an experimental study in a passerine bird. *Oecologia* 142, 541-545.
- Maxwell, M. H. 1987 The avian eosinophil: a review. *Worlds Poultry Science Journal* 43, 190-207.
- Maxwell, M. H. & Robertson, G. W. 1998 The avian heterophil leucocyte: a review. *Worlds Poultry Science Journal* 54, 155-178.
- Mayer, L., Lustick, S. & Battersby, B. 1982 The importance of cavity roosting and hypothermia to the energy balance of the winter acclimatized Carolina chickadee. *International Journal of Biometeorology* 26, 231-238.
- Merino, S., Moreno, J., José Sanz, J. & Arriero, E. 2000 Are avian blood parasites pathogenic in the wild? A medication experiment in Blue tits (*Parus caeruleus*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B* 267, 2507-2510.
- Merino, S., Moreno, J., Vasquez, R. A., Martinez, J., Sanchez-Monsalvez, I., Estades, C. F., Ippi, S., Sabat, P., Rozzi, R. & McGehee, S. 2008 Haematozoa in forest birds from southern Chile: Latitudinal gradients in prevalence and parasite lineage richness. *Austral Ecology* 33, 329-340.

- Moller, A. P. & Nielsen, J. T. 2007 Malaria and risk of predation: A comparative study of birds. *Ecology* 88, 871-881.
- Moreno, J., Merino, S., Martinez, J., Sanz, J. J. & Arriero, E. 2002 Heterophil/lymphocyte ratios and heat-shock protein levels are related to growth in nestling birds. *Ecoscience* 9, 434-439.
- Niemi, G., Hanowski, P., Helle, R., Howe, M., Mönkkönen, Venier, L. & Welsh, D. 1998 Ecological sustainability of birds in boreal forests. *Conservation Biology* 2, 17.
- Nilsson, A. L. K., Nilsson, J.-Å. & Alerstam, T. 2011 Basal metabolic rate and energetic cost of thermoregulation among migratory and resident blue tits. *Oikos* 120, 1784-1789.
- Nordling, D., Andersson, M., Zohari, S. & Gustafsson, L. 1998 Reproductive effort reduces specific immune response and parasite resistance. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 265, 1291-1298.
- Orell, M., Lahti, K. & Matero, J. 1999 High survival rate and site fidelity in the Siberian tit *Parus cinctus*, a focal species of the taiga. *Ibis* 141, 460-468.
- Ots, I. & Hõrak, P. 1998 Health impact of blood parasites in breeding Great tits. *Oecologia* 166, 441-448.
- Ots, I., Murumagi, A. & Horak, P. 1998 Haematological health state indices of reproducing Great tits: methodology and sources of natural variation. *Functional Ecology* 12, 700-707.
- Poulin, R. 1996 Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *American Naturalist* 147, 287-295.
- Reinertsen, R. E. & Haftorn, S. 1986 Different metabolic strategies of northern birds for nocturnal survival. *Journal of Comparative Physiology B* 156, 655-663.
- Richner, H., Christe, P. & Oppliger, A. 1995 Paternal investment affects prevalence of malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92, 1192-1194.
- Romero, L. M. 2004 Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 249-255.
- Romero, L. M. & Reed, J. M. 2005 Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*: 140, 73-79.
- Romero, L. M. & Wikelski, M. 2001 Corticosterone levels predict survival probabilities of Galápagos marine iguanas during El Niño events. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 7366-7370.
- Rupley, A. E. 1997 *Manual of avian practice*. Philadelphia: W.B. Saunders.
- Ryder, J. 2003 Immunocompetence: an overstretched concept? *Trends in Ecology and Evolution* 18, 319-320.

- Rytönen, S., Ilomäki, K., Orell, M. & Welling, P. 1996 Absence of blood parasites in Willow tits (*Parus montanus*) in northern Finland. *Journal of Avian Biology* 27, 173-174.
- Rytönen, S. & Krams, I. 2003 Does foraging behaviour explain the poor breeding success of Great tits (*Parus major*) in northern Europe? *Journal of Avian Biology* 34, 288-297.
- Rytönen, S. & Orell, M. 2001 Great tits, *Parus major*, lay too many eggs: experimental evidence in mid-boreal habitats. *Oikos* 93, 439-450.
- Saari, L., Pulliainen, E., Hildén, O., Järvinen, A. & Mäkisalo, I. 1994 Breeding biology of the Siberian tit, *Parus cinctus*, in Finland. *Journal of Ornithology* 135, 549-575.
- Sanz, J. J., Tinbergen, J. M., Moreno, J., Orell, M. & Verhulst, S. 2000 Latitudinal variation in parental energy expenditure during brood rearing in the Great tit. *Oecologia* 122, 149-154.
- Sekov, A. N. & Germogenov, N. I. 2006 To breeding biology of the Siberian tit (*Parus cinctus*, Paridae), and the red-breasted flycatcher (*Ficedula parva*, Muscicapidae), in Central Yakutia. *Zoologicheskii Zhurnal* 85, 208-218.
- Sheldon, B. C. & Verhulst, S. 1996 Ecological immunology: costly parasite defenses and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 11, 317-321.
- Shutler, D., Mullie, A. & Clark, R. G. 2004 Tree swallow reproductive investment, stress, and parasites. *Canadian Journal of Zoology* 82, 442-448.
- Silverin, B., Arvidsson, B. & Wingfield, J. 1997 The adrenocortical responses to stress in breeding Willow warblers (*Phylloscopus trochilus*) in Sweden: effects of latitude and gender. *Functional Ecology* 11, 376-384.
- Stevenson, R. D., Tuberty, S. R., deFur, P. L. & Wingfield, J. C. 2005 Ecophysiology and conservation: the contribution of endocrinology and immunology-introduction to the symposium. *Integrative and Comparative Biology* 45, 1-3.
- Stjernman, M., Raberg, L. & Nilsson, J. A. 2004 Survival costs of reproduction in the Blue tit (*Parus caeruleus*): a role for blood parasites? *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 271, 2387-2394.
- Suorsa, P., Helle, H., Koivunen, V., Huhta, E., Nikula, A. & Hakkarainen, H. 2004 Effects of forest patch size on physiological stress and immunocompetence in an area-sensitive passerine, the Eurasian treecreeper (*Certhia familiaris*): an experiment. *Proceedings of the Royal Society of London B* 271, 435-440.
- Suorsa, P., Huhta, E., Nikula, A., Nikinmaa, M., Jantti, A., Helle, H. & Hakkarainen, H. 2003 Forest management is associated with physiological stress in an old-growth forest passerine. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270, 963-969.

- Sutherland, W. J. & Parker, G. A. 1985 *Distribution of unequal competitors*. Oxford: Blackwell.
- Thrall, M. A. 2004 *Hematology of amphibians, veterinary hematology and clinical chemistry: text and clinical case presentations*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Tummeleht, L., Magi, M., Kilgas, P., Mand, R. & Horak, P. 2006 Antioxidant protection and plasma carotenoids of incubating Great tits (*Parus major* L.) in relation to health state and breeding conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology* 144, 166-172.
- Valkiūnas, G. 2005 *Avian malaria parasites and other haemosporidia*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Virkkala, R. 1988 Foraging niches of foliage-gleaning birds in the northernmost taiga in Finland. *Ornis Fennica* 65, 104-113.
- Virkkala, R. 1990 Ecology of the Siberian tit *Parus cinctus* in relation to habitat quality: effects of forest management. *Ornis Scandinavica* 21, 139-146.
- Virkkala, R. & Liehu, H. 1990 Habitat selection by the Siberian tit *Parus cinctus* in virgin and managed forests in Northern Finland. *Ornis Fennica* 67, 1-12.
- Visser, M. E. & Lessells, C. M. 2001 The costs of egg production and incubation in Great tits (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society of London B* 268, 1271-1277.
- Wasser, S. K., Bevis, K., King, G. & Hanson, E. 1997 Noninvasive physiological measures of disturbance in the Northern spotted owl. *Conservation Biology* 11, 1019-1022.
- Wikelski, M. & Cooke, S. J. 2006 Conservation physiology. *Trends in Ecology and Evolution* 21, 38-46.
- Wingfield, J. C. & Kitaysky, A. S. 2002 Endocrine responses to unpredictable environmental events: stress or anti-stress hormones? *Integrative and Comparative Biology* 42, 600-609.
- Zanette, L., Doyle, P. & Trémont, S. M. 2000 Food shortage in small fragments: evidence from an area-sensitive passerine. *Ecology* 81, 1654-1666.
- Zuk, M. & Stoehr, A., M. 2002 *Immune defense and host life history*. Chicago, IL: University of Chicago Press.

Dina Cīrule. *Stress, izdzīvošana, asins parazīti un hematoloģiskie parametri putniem. Promocijas darba kopsavilkums.* 2012. 38 lpp.