

TARTU ÜLIKOOL
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND
LOOMAÖKOLOOGIA ÕPPETOOL

Aile Sumberg

**UROPÜGIAALNÄÄRME NÕRE MÕJU SULESTIKU
BAKTERITE ARVUKUSELE KAHEL VÄRVULISEL**

Magistritöö

Juhendaja: Grete Alt

TARTU 2015

Sisukord

SISSEJUHATUS	3
1. MATERJAL JA METOODIKA.....	9
2.1. Uuritav süsteem	9
2.2. Proovide kogumine.....	10
2.3. Laboratoorsed tööd	11
2.3.1. Sulgede töötlus uropügiaalnäärme nõrega.....	11
2.3.2. Bakterite arvukuse analüüs.....	12
2.4. Andmeanalüüs	12
3. TULEMUSED	14
4. ARUTELU	17
KOKKUVÕTE.....	22
SUMMARY	23
TÄNUAVALDUSED.....	24
KASUTATUD KIRJANDUS	25
LISAD	33

SISSEJUHATUS

Lindude sulestik on elukeskkonnaks mitmesugustele ektoparasiitidele ja mikroorganismidele. Kui lindude ektoparasiite on suhteliselt palju uuritud (Cotgreave & Clayton 1994, Christe et al. 1996, Clayton et al. 2010, Waite et al. 2012), siis lindude sulestiku mikroorganismide kohta on veel vähe teada. Tänu molekulaarsete ning mikrobioloogiliste meetodite kiirele arengule ja odavnemisele on viimastel aastakümnetel hakatud lähemalt uurima mikroobide ja loomade vahelisi interaktsioone (McFall-Ngai et al. 2013). Senistest uuringutest on selgunud, et mikroorganismidel võib olla varem arvatust olulisem roll loomade elukäigu kujundamisel (Archie & Theis 2011, McFall-Ngai et al. 2013). Seetõttu on ka mikroobikoosluste uurimine lindudel aktuaalne ning uudne valdkond, millest teatakse vähe vaatamata intensiivistunud uuringutele.

Sulgedel võib elutseda mitmekesine mikroobikooslus, mis võib koosneda bakteritest, seentest ning algloomadest (Burt & Ichida 1999, Shawkey et al. 2003, Burt & Ichida 2004, Shawkey et al. 2005, Goodenough & Stallwood 2010), kuid seni pole nende roll ja mõju lindude elukäigule veel kuigi selge. Linnu sulestiku mikroorganismide kooslused on dünaamilised ning sulebakterite arvukus ja mitmekesisus varieerub linnuliikide (Burt & Ichida 1999, Shawkey et al. 2006, Saag et al. 2011a) ja isendite vahel (Bisson et al. 2007, Kilgas et al. 2012a). Enamasti satuvad mikroorganismid sulgedele kokkupuudetest erinevate keskkondadega (Burt & Ichida 1999, Shawkey et al. 2005). Mikroorganismide arvukus võib sõltuda toitumisest (Burt & Ichida 1999), elupaigast (Burt & Ichida 2004, Shawkey et al. 2006, Bisson et al. 2007, Saag et al. 2011b), sulgimisstaadiumist (Burt & Ichida 1999, Bisson et al. 2009), sigimisetapist (Lucas et al. 2005, Kilgas et al. 2012b), linnu soost (Lucas et al. 2005, Møller et al. 2009, Saag et al. 2011b), kokkupuutest teiste lindudega (Lucas et al. 2005, Gunderson et al. 2009, Møller et al. 2009, Saag et al. 2011b) ja rändsusest (Bisson et al. 2007). Nimelt on leitud, et sulebakterite arvukus on paigalindudel kõrgem kui rändlindudel (Bisson et al. 2007, Bisson et al. 2009).

Sulgedel leiduvaid mikroorganisme võib rühmitada mitmeti. Näiteks jaotatakse paljudes uurimustöodes sulgedel leiduvaid baktereid nende mõju järgi linnule – kasulikud ja neutraalsed ning kahjulikud (Burt & Ichida 1999, Bisson et al. 2007, Burt 2009). Samuti võib sulebaktereid jagada nende eluviisi alusel – kinnitunud ning vabaltelavateks bakteriteks (Lucas et al. 2003a, Lucas et al. 2003b, Lucas et al. 2005, Saag et al. 2011a,

Saag et al. 2011b). Uuringutes on näidatud, et biokile abil substraadile kinnitumine pakub bakteritele stabiilsemat elukeskkonda, kaitset ärasöömise eest ning mehaanilise või keemilise eemaldamise vastu (Lucas et al. 2003b). Kinnitunud bakterite hulgas on mitmeid kahjulikke baktereid, kes võivad oma elutegevusega linnu elukäiku negatiivselt mõjutada (Gunderson 2008, Burt 2009). Vabaltelavad bakterid on aga enamasti „ohutud kaasreisijad“, kes satuvad sulgedele juhuslikult või kasutavad sulgi elupaigana, ent ei põhjusta peremeesorganismile kahju (Shawkey et al. 2003, Czirjak et al. 2013, Giraudeau et al. 2013, Jacob et al. 2014a). Seni on leitud, et eelkõige kahjulikud bakterid võivad oluliselt mõjutada lindude elukäiku (Burt & Ichida 2004, Shawkey et al. 2007, Gunderson et al. 2009), sigimiskäitumist (Kulkarni & Heeb 2007, Shawkey et al. 2007, Shawkey et al. 2009) ning kaitsemehhanismide evolutsiooni (Shawkey et al. 2003, Møller et al. 2009, Ruiz-Rodriguez et al. 2009, Soler et al. 2012, Peralta-Sánchez et al. 2014). Patogeensed bakterid võivad kanduda emaslinnu sulgedelt munadele ning läbida munakoore ja nakatada looteid, põhjustades nende hukkumist (Martin-Vivaldi et al. 2009, Peralta-Sánchez et al. 2012, Soler et al. 2012). Mitmed bakteriliigid on võimelised lagundama sulgede keratiini ning seeläbi kahjustama sule kvaliteeti ja struktuuri ning põhjustada sulgede murdumist (Burt & Ichida 1999, Shawkey et al. 2003, Gunderson 2008, Burt 2009). Kahjustunud sulestik võib aga põhjustada termoregulaatorseid häireid ning lennuvõime vähenemist (Booth et al. 1993, Burt & Ichida 1999, Clayton 1999, Møller et al. 2012). Lisaks võivad sulebakterid mõjutada sulgede värvust ja seeläbi lindude sigimiskäitumist (Shawkey et al. 2007, Gunderson et al. 2009, Shawkey et al. 2009, Jacob et al. 2014a), kuna sulgede värvus on oluline signaaltunnuse partneri kvaliteedi kohta. Samuti võivad sulgilagundavad bakterid mõjutada sulevärvuse evolutsiooni (Burt & Ichida 2004, Goldstein et al. 2004, Peele et al. 2009).

Enamiku ektoparasiitide eemaldamiseks sulestikust kasutavad linnud sugemist (Clayton et al. 2010). Samas on aga küsitav, kui võrd mõjutab sugemine sulebakterite arvukust. Lindudel on lisaks sugemisele täheldatud ka teisi käitumuslikke kohastumusi, mis aitavad parasiitide arvukust kontrollida. Näiteks on pakutud, et päikese käes peesitamine (Saranathan & Burt 2007), tolmus või vees kümblemine (Clayton et al. 2010) ning sipelghappega sulgede määrimine (Clayton & Wolfe 1993, Revis et al. 2004) võiksid vähendada sulgedel leiduvate bakterite arvukust. Ka roheliste antibakteriaalsete omadustega taimeosade lisamine pesadesse võib kontrollida bakterite arvukust (Clayton et

al. 1999, Petit et al. 2002, Mennerat et al. 2009). Siiski pole katseliselt tõestatud, kas ja kuidas eelpool mainitud tegevused võiksid sulebakterite arvukust mõjutada.

Üks kaitsemehhanisme kahjulike sulebakterite arvukuse piiramiseks võib olla sulgede võidmine uropügiaalnäärme nõrega (Haribal et al. 2005, Shawkey et al. 2005, Ruiz-Rodriguez et al. 2009). Uropügiaalnääre on nahanääre saba lähedal, mis toodab õlist nõret (Gill 2007, Clayton et al. 2010). Kuigi uropügiaal- ehk päraniapunäärme (UPN) ehitust ja funktsioone on uuritud suhteliselt kaua aega tagasi (Jacob & Ziswiler 1982), on alles viimasel ajal hakatud tähelepanu pöörama nõre parasiitide vastastele omadustele. UPN on olemas enamikul, ent mitte kõigil lindudel ning näärme suurus ja kuju varieeruvad liigiti (Gill 2007). Samuti on erinevad UPN nõre koostised ning omadused, mis võivad sõltuda linnuliigist (Haribal et al. 2005, Haribal et al. 2009, Salibián & Montalti 2009), aastaajast (Haribal et al. 2005, Reneerkens et al. 2008, Pap et al. 2010) ning linnu soost (Giraudeau et al. 2013, Jacob et al. 2014b). Haribal et al. (2005) leidsid, et linnuliikidel on liigispetsiifilised UPN nõred ning arvasid, et erinevused nõrede koostises ning koguses võivad tulla lindude kokkupuudetest erinevate ektoparasiitide ning mikroorganismidega. Ka Sweeney et al. (2004) jõudsid järeldusele, et nii linnu elupaik ja elupaiga keskkonnategurid (nt niiskustingimused, UV-kiirgus) ning sulestikus elavad ektoparasiidid ja bakterid võivad mõjutada UPN nõre koostist. UPN nõre koosneb lipiidsetest ühenditest, peamiselt pikaahelalistest küllastumata rasvhapetest ning alkoholidest, mis moodustavad mono- ning diestervahasid (Jacob & Ziswiler 1982, Salibián & Montalti 2009). Lisaks sisaldavad nõred vabasisid rasvhappeid, alkohole ning muid orgaanilisi ühendeid (Jacob & Ziswiler 1982). Ilmselt on nõres leiduvatel ühenditel erinevad funktsioonid. Uuringutes on leitud, et väljaspool sigimisperioodi sisaldab UPN nõre enamasti monoestervahasid, diestervahad esinevad nõres sigimise ajal (Reneerkens et al. 2002, 2005). Pikaahelalised rasvhapped lahustuvad vees halvasti ning võivad seeläbi olla olulised sulgede veekindluse tagamisel (Sweeney et al. 2004). Samuti sisaldavad mõnede linnuliikide nõred tugeva lõhnaga lenduvaid ühendeid (Burger et al. 2004, Martin-Vivaldi et al. 2009, Whittaker et al. 2010). On teada, et vaenukäo (*Upupa epops*) tumeda värvusega halvalõhnaline nõre on oluline kiskjate peletamiseks ning munade kaitsmiseks haigustekitajate eest (Burger et al. 2004, Martin-Vivaldi et al. 2009).

Varasemalt on arvatud, et UPN nõre võiks takistada sulgi märgumast (Jacob & Ziswiler 1982). Hilisemad uuringud aga viitavad, et UPN nõre lipiidised ühendid on olulised sulgede konditsiooni ning struktuuri säilitamisel, mis omakorda tagab sulestiku veekindluse (Moyer et al. 2003, Haribal et al. 2005). Moyer et al. (2003) näitasid, et UPN eemaldamisel muutusid kodutuvi (*Columba livia*) suled hapraks ning murdusid kergemini. Lisaks on uuritud UPN nõre rolli lindude omavahelisel suhtlemisel. Kuna nõre koostis ning kogus muutuvad sigimisperioodil (Kolattukudy et al. 1987, Reneerkens et al. 2002, Martin-Vivaldi et al. 2009, Møller et al. 2010, Pap et al. 2010, Vincze et al. 2013), võib see olla lõhnasignaalsiks sigimisvalmiduse kohta (Reneerkens et al. 2002, Whittaker et al. 2010). Samuti võib sigimisperioodil suurenenud UPN toota rohkem nõret ning kaitsta seeläbi kaudselt mune kahjulike bakterite eest (Møller et al. 2010), takistades patogeenide kasvamist. Lisaks võib UPN nõre takistada ektoparasiitide liikumist sulgedel või ummistada lüljalgsete parasiitide hingamisavasid, mistõttu nad hukuvad (Moyer et al. 2003, Haribal et al. 2005). Samuti on näidatud, et suurema uropügiaalnäärmeega lindudel on sulestikus vähem ektoparasiite (Møller et al. 2010). Viimased uuringud näitavad, et UPN nõre võib olla oluline sulebakterite arvukuse mõjutaja (Soler et al. 2008, Møller et al. 2009, Jacob et al. 2014b). On võimalik, et UPN nõre tekitab otsese füüsilise barjääri bakteritele, mistõttu nad ei pääse sulgede pinnani (Reneerkens et al. 2008). Samuti võivad nõre keemilistel ühenditel olla antimikroobsed omadused (Jacob et al. 1997, Gunderson et al. 2009). On leitud, et UPN nõre võib pärssida ühtede bakterite elutegevust (Shawkey et al. 2003, Reneerkens et al. 2008, Møller et al. 2009, Czirjak et al. 2013), samal ajal soodustades teiste bakterite kasvu (Shawkey et al. 2005, Gunderson et al. 2009). Nii võivad mitmed sümbiontsed antibiootikume tootvad bakterid kasvada nõre sees, pärssides kahjulike bakterite kasvu (Soler et al. 2008, Martin-Vivaldi et al. 2010, Soler et al. 2010). Näiteks on leitud, et vaenukäo uropügiaalnäärmes elavad sümbiontsed perekonna *Enterococcus* bakterid eritavad antimikroobseid ühendeid, mis muudavad nõre kahjulikuks teistele bakteritele (Soler et al. 2008, Martin-Vivaldi et al. 2009). See lubab arvata, et UPN nõre võib olla oluline kaitsemehhanism kahjulike sümbiontidega toimetulemisel.

Nagu eelnevalt mainitud on erinevate linnuliikide nõrede omadused ning koostised üsna erisugused (Jacob & Ziswiler 1982, Haribal et al. 2005, Haribal et al. 2009). Samuti on linnuliikide sulgedel elavad bakterid väga varieeruvad (Shawkey et al. 2005, Shawkey et al. 2006, Goodenough & Stallwood 2010). See lubab arvata, et erinevate liikide UPN

nõred võivad olla evolutsioneerunud tulemaks toime erisuguste sulebakteritega. Samuti on teada, et liigisiselt võivad isendite UPN nõred olla erineva koostisega (Montalti et al. 2005, Vincze et al. 2013, Jacob et al. 2014b). Seega võib igal linnul olla liigispetsiifiline, ent samas individuaalselt varieeruv UPN nõre, mis muutub vastavalt linnu eluetapile, keskkonnatingimustele või kahjulike mikroorganismide olemasolule (Haribal et al. 2005, Pap et al. 2010, Whittaker et al. 2010).

Paljud eespool viidatud uuringutest on esma- ja ainukordsed, seepärast napib võrdlusandmeid ning mitmed mikroobide mõjud lindude elukäigule on üksnes oletuslikud. Samuti baseerub suur osa uuringuid korrelatiivsetele andmetele (Burt & Ichida 1999, Shawkey et al. 2005, Shawkey et al. 2006, Møller et al. 2009), kuid eksperimentaalsetest uuringutest, mis tõestaksid põhjuslikke seoseid, on seni puudus. Siiski on üksikuid eksperimentaalseid töid, mis demonstreerivad mikroorganismide põhjuslikku mõju lindude sigimiskäitumise kujunemisele (Martin-Vivaldi et al. 2009, Ruiz-de-Castaneda et al. 2011a), kaitsemehhanismide tekkimisele (Shawkey et al. 2003, Reneerkens et al. 2008) ja sulestiku omaduste kujunemisele (Burt & Ichida 2004, Shawkey et al. 2007). Lindude baktereid käsitlevad uurimustööd keskenduvad sageli just nende kloaagi (Ruiz-Rodriguez et al. 2009, White et al. 2010, Ruiz-de-Castaneda et al. 2011a) ja munakoore mikroobikoosluste uurimisele (Martin-Vivaldi et al. 2009, Soler et al. 2010, Peralta-Sánchez et al. 2012, Soler et al. 2012, Peralta-Sánchez et al. 2014). Samuti piirduvad paljud tööd vaid mõne bakteriliigi või –rühma mõjude uurimisega. Senised uuringud UPN nõre mõjude kohta sulebakteritele on andnud vastuolulisi tulemusi. On leitud, et nõre pärsib kahjulike sulebakterite elutegevust (Shawkey et al. 2003, Gunderson 2008, Reneerkens et al. 2008), kuid on ka uuringuid, kus pole tuvastatud nõre olulist mõju bakteritele (Czirjak et al. 2013, Giraudeau et al. 2013). Paljud mainitud uuringutest on siiani esmakordsed ning enamasti on igas töös kasutatud erinevat metoodikat, mistõttu on tulemusi keeruline võrrelda. Teadaolevalt pole seni tehtud niisugust eksperimentaalset uuringut, mis kajastaks UPN nõre mõju sulestiku bakterite arvukusele.

Seetõttu oli käesoleva töö eesmärgiks eksperimentaalselt uurida UPN nõre võimalikke mõjusid sulebakteritele. Põhieesmärgiks oli selgitada, kas ja kuidas erinevate linnuliikide UPN nõre mõjutab uuritava linnuliigi sulestikus elavate bakterite arvukust. Lisaks uuriti võimalikku biotoobi mõju, kuna on leitud, et bakterite arvukused võivad biotoobiti varieeruda (Burt & Ichida 1999, Bisson et al. 2007, Saag et al. 2011b, Alt et al. 2015).

Samal uurimisalal tehtud varasemad tööd on leidnud, et lehtmetsades on rasvatihase (*Parus major*) sulebakterite arvukus kõrgem (Saag et al. 2011, Kilgas et al. 2012a). Lisaks on näidatud, et vabaltelavaid baktereid on lehtmetsas pesitsevatel must-kärbsenäppidel (*Ficedula hypoleuca*) rohkem kui okasmetsas pesitsevatel isenditel (Alt et al. 2015).

Uuringu käigus töödeldi vabaltelavatelt rasvatihastelt ja must-kärbsenäppidelt võetud sulgi laboritingimustes erinevatelt linnuliikidelt võetud UPN nõredega ja hinnati töötluste mõju sulebakterite arvukusele. Biotoobi mõju hindamiseks kaasati linde kahest erinevast biotoobist (leht- ja okasmetsast).

Käesolevas töös püstitati järgnevad hüpoteesid:

1. UPN nõrega töötlemine vähendab eelkõige kinnitunud bakterite arvukust, kuid mitte vabaltelavate bakterite arvukust, kuna just kinnitunud bakterite hulgas on mitmeid haigustekitajaid ning linnule kahjulikke baktereid. Seevastu vabaltelavad bakterid on enamasti linnule ohutud. Lisaks moodustavad kinnitunud bakterid sulgedele biokile, mis takistab nende eemaldamist sugemise või kümblemise abil. Seetõttu peaks UPN olema evolutsioneerunud pärssimaks eelkõige kinnitunud bakterite arvukust.
2. Kõige efektiivsem on isendi enda UPN nõre, sest kui nõrel on mikroorganismidele pärssiv mõju, siis peaks see olema evolutsioneerunud eelkõige liigiomaselt ning kuna bakterikooslused võivad olla indiviidide vahel varieeruvad (Shawkey et al. 2005, Shawkey et al. 2006, Goodenough & Stallwood 2010), siis kõige efektiivsem bakterite arvukuse kontrollimisel võiks olla indiviidi enda nõre.
3. UPN nõrega töötlemise mõju erineb biotoopide vahel, kuna eri biotoopides pesitsevatel lindudel võib olla erineva koostisega UPN nõre (Sweeney et al. 2004). Lisaks erinevad bakterite arvukused ning kooslused biotoobiti (Saag et al. 2011b, Kilgas et al. 2012b, Alt et al. 2015), kokkupuuted erinevate mikroobidega võivad aga omakorda mõjutada nõre koostist (Haribal et al. 2005).

1. MATERJAL JA METOODIKA

2.1. Uuritav süsteem

Välitööd toimusid 2012. aasta juunis Edela-Eestis Kilingi-Nõmme (58°7' N, 25°5' E) ümbruses. Uuritava ala metsamassiivi moodustab enamasti okasmets, mille dominantseks puuliigiks on harilik mänd (*Pinus sylvestris*), alustaimestik valitsevad peamiselt harilik mustikas (*Vaccinium myrtillus*) ja harilik pohl (*Rhodococcum vitis-idaea*). Lehtmets paikneb laikudena ojakallastel ning niiskematel aladel, domineerivad puuliigid on hall lepp (*Alnus incana*) ja harilik kask (*Betula pendula*), alustaimestik on väga mitmekesine. Pesakastid paiknevad nii leht- kui okasmetsas (vt (Mägi & Mänd 2004).

Eksperiment viidi läbi kahe linnuliigiga:

Rasvatihane (*Parus major*) on värvuliste (*Passeriformes*) seltsi tihaslase (*Paridae*) sugukonda kuuluv 14-22 g kaaluv paigalind või lühimaa rändur (Cramp & Perrins 1993). Rasvatihane on levinud peaaegu kogu Euraasias (Hagemeijer & Blair 1997). Eestis on rasvatihane sage pesitseja, asustades pigem lehtmetsi (Mänd et al. 2005), kus on piisavalt sobilikke toiduobjekte ning looduslikke pesaõõnsusi. Samas kasutavad rasvatihased pesitsemiseks ka pesakaste (Hagemeijer & Blair 1997). Pesitsema hakkavad rasvatihased aprilli keskel. Pesa ehitatakse samblast ning kõrttest ja vooderdatakse karvadega. Kurnas on 5-13 muna. Suveperioodil on rasvatihased putuktoidulised (Cramp & Perrins 1993), toitudes enamasti otse maapinnal või maapinna lähedal põõsarinde võrastikes (Cramp & Perrins 1993, Hagemeijer & Blair 1997).

Rasvatihase UPN on kahesagaraline ning ümar, neeru- (Jacob & Ziswiler 1982) või südamekujuline (Galvan & Sanz 2006). Näärme nibulaadses tipus paikneb avaus, kuhu suubuvad viimajuhad (Galvan & Sanz 2006). Rasvatihaste UPN maht on keskmiselt 100,1 mm³ (Vincze et al. 2013), moodustades linnu kehamassist 0,14% (Montalti & Salibián 2000).

Must-kärbsenäpp (*Ficedula hypoleuca*) on värvuliste (*Passeriformes*) seltsi kärbsenäplaste (*Muscicapidae*) sugukonda kuuluv 12-13 g kaaluv rändlind (Cramp & Perrins 1993). Must-kärbsenäpp talvitub Lääne-Aafrikas (Hagemeijer & Blair 1997), saabudes Eestisse aprilli lõpus. Must-kärbsenäpp on suluspesitseja, kes pesitseb sarnaselt rasvatihasele meeledi ka pesakastides, nii leht- kui okasmetsades (Cramp & Perrins 1993,

Hagemeyer & Blair 1997). Pesitsema hakkavad must-kärbsenäpid mai esimesel poolel. Pesa vooderdatakse männikoore ebemete, heina, kuivanud puulehtede või väheste karvade ja samblaga (Cramp & Perrins 1993). Kurna suurus on tavaliselt 5-7 muna. Must-kärbsenäpp on putuktoiduline (peamiselt kiletiivalised (*Hymenoptera*), kahetiivalised (*Diptera*), mardikad (*Coleoptera*) ja röövikud), erinevalt rasvatihasest püütakse enamik toiduobjektidest puukoorelt ning okstelt, harvem maapinnalt (Cramp & Perrins 1993).

Must-kärbsenäpi UPN on sarnaselt rasvatihasele kahesagaraline ning ümar, ent veidi väiksem (isiklikud vaatlused). Must-kärbsenäpi UPN maht on keskmiselt 57,7 mm³ (Vincze et al. 2013).

2.2. Proovide kogumine

Poegade toitmise perioodil püüti 30 emast lindu: 15 must-kärbsenäppi ning 15 rasvatihast. Linnud püüti ajal, mil pesapojad olid 6-8 päeva vanused. Emaslinnud võeti pesakastidest, kasutades igakordselt uusi steriilseid kummikindaid. 30 sekundi jooksul pärast linnu kätte võtmist eemaldati pintsettidega (mida enne iga proovi võtmist puhastati 96%-lise etanooliga) igalt linnult 15 rinnasulge, mis asetati steriilsetesse mikrotoubidesse. Proovid ladustati koheselt 4 °C juures ning transporditi jahutuskastis laborisse, kus neid säilitati -20 °C juures kaks nädalat ja seejärel -80 °C juures kuni edasiste analüüside tegemiseni. Sama meetodikat on kasutanud Saag et al. (2012) ja Alt et al. (2015).

Uropügiaalnäärme nõre kogumiseks puhastati näärme ümbrus füsioloogilises lahuses immutatud vatitikuga ning pigistati õrnalt uropügiaalnäärme piirkonda seni, kuni nõret enam ei eritunud. Eritunud nõre koguti steriilseesse kapillaari, nõre kogus mõõdeti (0,1 mm täpsusega) ning asetati mikrotoubi (Møller et al. 2009). Mikrotoubid nõrega ladustati koheselt 4 °C juures ning transporditi jahutuskastis laborisse, kus neid säilitati -20 °C juures kuni edasiste analüüside tegemiseni (Amo et al. 2012). Püütud emaslinnud kaaluti (0,1 g täpsusega) ning mõõdeti jooksmee- ja tiivapikkus (vastavalt 0,1 mm ja 0,1 g täpsusega).

Eri liikide uropügiaalnäärme nõre mõju hindamiseks sulebakterite arvukusele kasutati lisaks must-kärbsenäpi ning rasvatihase nõrele ka kodutuvi (*Columba livia*) uropügiaalnäärme nõret. Kodutuvide UPN on sarnaselt rasvatihasele ja must-kärbsenäpile kahesagaraline ning neerukujuline (Jacob & Ziswiler 1982), samas on kodutuvide UPN

suhteliselt väike, moodustades kehamassist vaid 0,02% (Montalti & Salibián 2000, Montalti et al. 2005). Kodutuvi UPN maht on 321.4 mm³ (Vincze et al. 2013).

Kodutuvi UPN nõre kogumiseks püüti Tartus loorvõrkudega pesitsuperioodil 26 kodutuvi. Nõre kogumiseks kasutati samasugust meetodit nagu eelpool kirjeldatud. Emased ning isased kodutuvid on väliste tunnuste alusel peaaegu eristamatud (Steadman 2001). Kuigi Montalti et al. (2005) andmetel ei erine emaste ja isaste kodutuvide nõrede koostised oluliselt, siis selleks, et vältida soo võimalikke mõjusid, segati kõigi tuvide nõre kokku ühte steriilsesse mikrotuubi. Nõre säilitati -20 °C juures kuni edasiste analüüside tegemiseni.

2.3. Laboratoorsed tööd

2.3.1. Sulgede töötlus uropügiaalnäärme nõrega

Igalt isendilt kogutud suled jaotati juhuslikult 5 gruppi: kontroll (algne bakterite arvukus) ja neli erinevat töötlust. Töötluste tehti (a) destilleeritud veega, (b) tuvi nõrega, (c) isendi oma nõrega ning (d) teise värvulise liigi, vastavalt kas rasvatihase või must-kärbsenäpi nõrega (lisa 1). Igasse gruppi kuulus ühelt isendilt 3 sulge. Selleks, et töödelda sulgi teise värvulise liigi nõrega, moodustati samas biotoobis pesitsevatest rasvatihastest ja must-kärbsenäppidest juhuslikud paarid ning neilt kogutud nõret kasutati vastastikku sulgede töötlemiseks. Kontrollgrupi suled jäeti töötlemata ning neid kasutati esialgse bakterite arvukuse määramiseks. Ülejäänud gruppidesse määratud suled töödeldi vastavalt enne bakterite arvukuse määramist.

Nõre eemaldamiseks kapillaarist soojendati kogutud nõre 21 kraadini ning fuugiti (1 min 13000 rpm) steriilsesse tuubi. Kapillaar eemaldati steriilsete pintsettidega (mis enne iga proovi võtmist kasteti 96%-lise etanooli sisse ja põletati seejärel piirituselambil) ning nõrest tehti emulsioon lahjendusega 1:2-le destilleeritud veega. Enne sulgedele kandmist soojendati emulsioon loksutil (15 min 1400 rpm) 37 kraadini.

Kolme erineva grupi sulgi töödeldi laminaarkapi all vastavalt saadud nõre ja vee emulsiooniga (tuvi nõre, oma nõre ning teise värvulise liigi nõre). Soojendatud emulsioon (6 µl proovi kohta) kanti pipetiga ühe linnu ühe grupi kõigile sulgedele (igale sulele 2 µl). Seejärel asetati ühe linnu ühe grupi nõrega töödeldud suled üksteise peale, suruti omavahel kergelt kokku selleks, et emulsioon jaotuks ühtlaselt sulgedele ning tõsteti tuubi, millesse oli eelnevalt pandud 100 µl destilleeritud vett, et tuubis oleks tagatud bakterite kasvuks

soodne keskkond. Suled pandi tuubi nii, et need ei puutunud veega kokku. Veega töödeldud gruppi kuuluvate sulgedega toimiti samamoodi, kuid nõre emulsiooni asemel kasutati ainult destilleeritud vett (igale sulele kanti 2 µl destilleeritud vett). Veega töödeldud gruppi kasutati selleks, et kontrollida võimalikku sulgede töötlemise mõju (nt. mehaanilised mõjud või proovide saastumine) bakterite arvukusele (inglk. *sham treatment*). Seejärel pandi proovid kuueks ööpäevaks soojakappi (37 °C, 100 rpm; (Goldstein et al. 2004), et sulgedel olevad bakterid saaksid kasvada. Pärast kuut päeva võeti proovid välja ning viidi läbi bakterite arvukuse analüüs.

2.3.2. Bakterite arvukuse analüüs

Bakterite arvukuse määramiseks lisati igasse tuubi 900 µl fosfaatpuhvit (PBS, pH 7,2), kontrollgrupi (algne bakterite arvukus) proovidele lisati aga veel 100 µl destilleeritud vett. Seejärel loksutati proove 10 sekundit vorteksil ning tsentrifuugiti (1 min 13000 rpm), et eraldada sulgedelt vabaltelavad bakterid puhverlahusesse. Seejärel eemaldati suled steriilsete pintsettidega ning kinnitunud sulebakterite eraldamiseks pandi suled uude steriilsesse mikrotuubi, kuhu lisati 1 ml fosfaatpuhvri lahust (PBS), mis sisaldas 2,5 % polüetüleen 6000 ja 0,1 % naatriumdeoksükolaati. Seejärel loksutati proove 10 sekundit vorteksil ja vastavalt Lucas et al. (2003) meetodikale, asetati mikrotuubid 10 minutiks ultrahelivanni, mis vabastas kinnitunud bakterid sulgedelt lahusesse. Proovid tsentrifuugiti (1 min 13000 rpm) ning seejärel eemaldati suled steriilsete pintsettidega. Sulgedelt eraldatud bakteriproove hoiti -80 °C juures ning vabaltelavate ning kinnitunud bakterite arvukused määrati eraldi. Bakterite arvukuse määramiseks loendati bakterirakke läbivoolu-tsütomeetris (BD LSR II), mis oli kalibreeritud tuvastama bakterisuurusi värvitud objekte. Rakkude värvimiseks kasutati luminesentsvärvi SYBR Green, mis seondub DNA-ga (Saag et al. 2011b). Pärast bakterite eemaldamist suled kuivatati (soojakapis 40 °C juures 48 h) ning kaaluti 0.001 mg täpsusega (Alt et al. 2015). Analüüsides kasutati bakterite arvukust ühe mg sule kohta.

2.4. Andmeanalüüs

Statistiline analüüs viidi läbi programmiga Statistica 12.0 (Statsoft.Inc 2012). Selleks, et andmed vastaksid normaaljaotusele, kasutati logaritmimist. Analüüsimiseks kasutati korduvmõõtmistega GLM mudeleid (*Repeated Measures General Linear Models*), kus sõltuvateks tunnusteks olid vastavalt isendi vabaltelavate või kinnitunud bakterite logaritmitud arvukused nii kontroll- kui erinevates töötlusgruppides. Kategooriliste

muutujatena kaasati mudelisse liik (rasvatihane ja must-kärbsenäpp) ning biotoop (lehtmets ja okasmets). Kovariaatidena kaasati analüüsidesse nii vanalindude parameetrid (kaal, tiiva pikkus, jooksme pikkus, nõre kogus) ning pesitsusnäitajad (munemise algus, kurna suurus, lennuvõimestund poegade arv), sest varasemad tööd on näidanud, et bakterite arvukus võib sõltuda isendi konditsioonist (Saag et al. 2011a, Saag et al. 2011b). Lõplikest mudelitest eemaldati ükshaaval kõik kovariaadid, sest neil polnud statistiliselt olulist mõju. Gruppidevaheliste erinevuste tuvastamiseks kasutati Tukey HSD *post-hoc* testi.

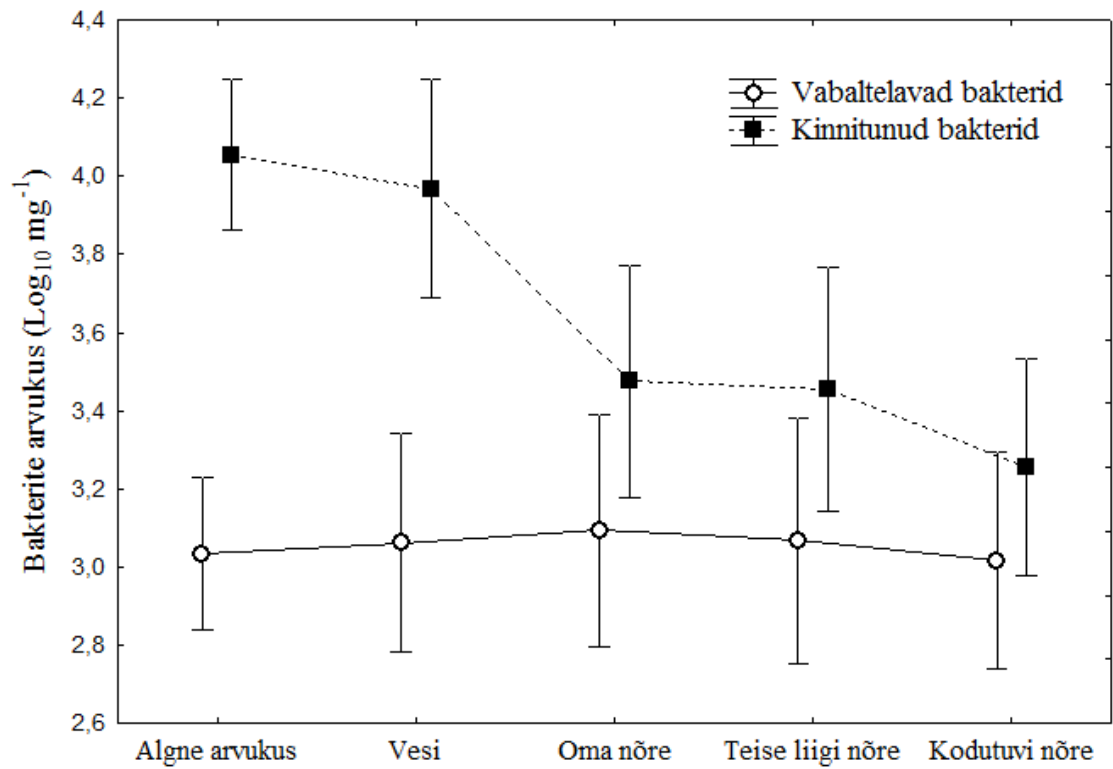
3. TULEMUSED

Manipulatsioon mõjutas oluliselt kinnitunud sulebakterite arvukust (tabel 1, joonis 1), kuid samas vabaltelavate bakterite puhul olulist manipulatsiooni mõju ei leitud (tabel 1, joonis 1). Kinnitunud bakterite arvukus vähenes võrreldes algse arvukusega oluliselt kolmes nõre töötlusgrupis (lisa 2): oma nõre (*post-hoc* $p=0,027$; joonis 1), teise värvuliseliigi nõre (rasvatihane/must-kärbsenäpp; *post-hoc* $p=0,019$; joonis 1) ning tuvi nõre töötlusgrupis (*post-hoc* $p=0,0008$; joonis 1). Kinnitunud bakterite arvukus ei erinenud oluliselt veega töödeldud grupi ja algse arvukuse vahel (joonis 1). Lisaks leiti, et kinnitunud baktereid oli nii rasvatihase ($F_{1, 14}=25,87$; $p<0,001$) kui must-kärbsenäpi ($F_{1, 14}=38,58$; $p<0,0001$) sulgedel oluliselt rohkem kui vabaltelavaid baktereid.

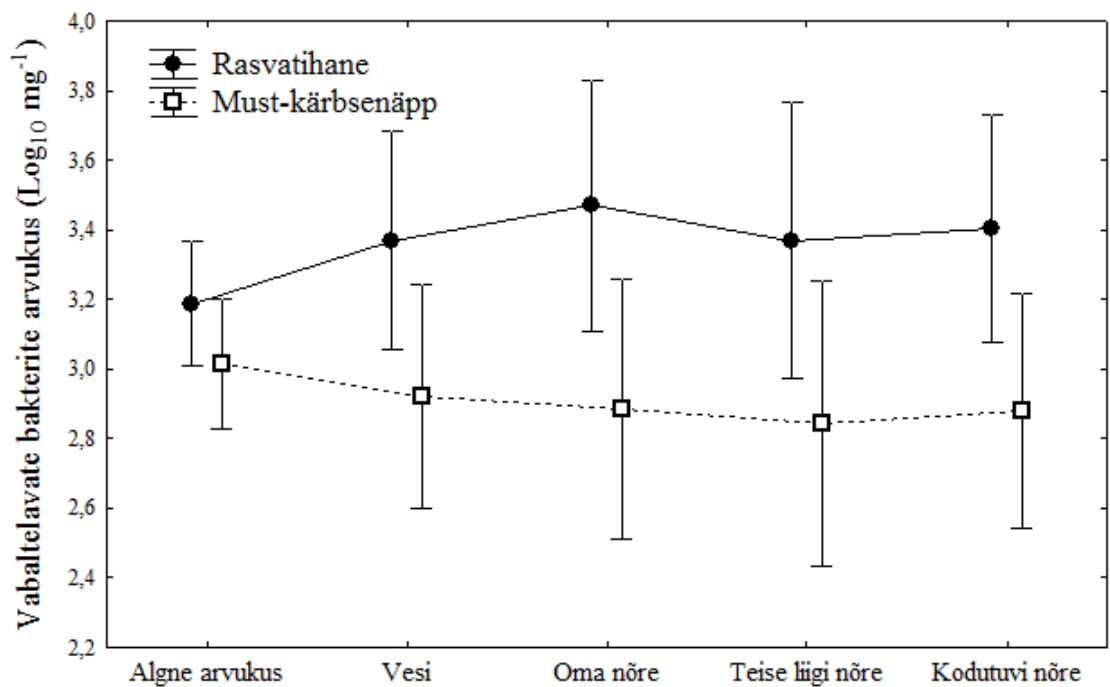
Vabaltelavate sulebakterite arvukus sõltus oluliselt linnuliigist (tabel 1, joonis 2), olles kõrgem rasvatihasel. Kinnitunud bakterite puhul olulist mõju liigil ei leitud, kuid oli oluline interaktsioon liigi ja manipulatsiooni vahel (tabel 1), mis seisnes selles, et rasvatihasel leiti oluline erinevus kinnitunud bakterite algse arvukuse ning tuvi nõrega töödeldud gruppide vahel (*post-hoc* $p=0,017$; joonis 3), ning must-kärbsenäpi puhul erinesid oluliselt algne arvukus ning indiviidi enda nõrega töödeldud grupp (*post-hoc* $p=0,017$; joonis 3). Biotoobi mõju kinnitunud ning vabaltelavate sulebakterite arvukusele ei olnud statistiliselt oluline (tabel 1), küll aga kaldus lehtmetsas pesitsevatel lindudel olema rohkem vabaltelavaid baktereid.

Tabel 1. Manipulatsiooni, liigi ja biotoobi mõju kinnitunud ning vabaltelavatele sulebakteritele.

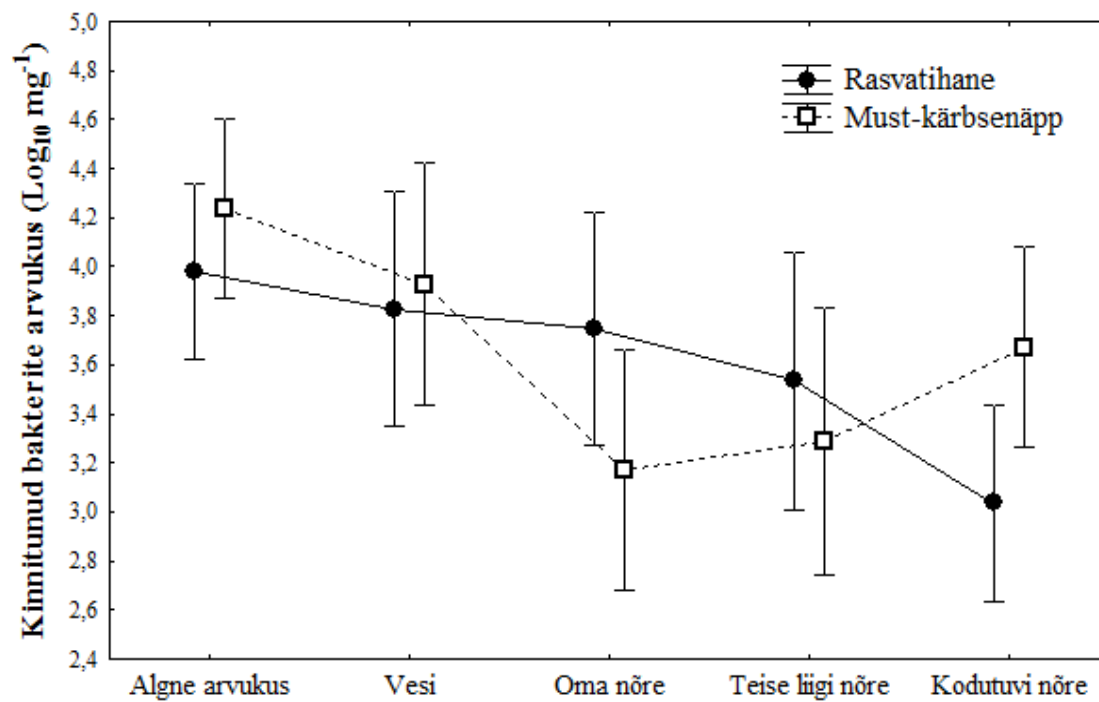
Faktor	Kinnitunud bakterid			Vabaltelavad bakterid		
	df	F	P	df	F	P
Liik	1	0,04	0,84	1	6,04	0,021
Biotoop	1	<0,01	0,99	1	3,95	0,057
Manipulatsioon	4	4,98	0,001	4	0,19	0,94
Manipulatsioon*Liik	4	2,88	0,026	4	1,56	0,19
Manipulatsioon*Biotoop	4	1,59	0,18	4	1,26	0,28
Viga	108			108		



Joonis 1. Uropügiaalnäärme nõrega töötlemise mõju vabaltelavate ning kinnitunud bakterite arvukusele. Vurrud tähistavad 95% usalduspiire. N=30.



Joonis 2. Uropügiaalnäärme nõrega töötlemise mõju vabaltelavate bakterite arvukusele rasvatihasel ning must-kärbsenäpil. Vurrud tähistavad 95% usalduspiire. N=15.



Joonis 3. Uropügiaalnäärme nõrega töötlemise mõju kinnitunud bakterite arvukusele rasvatiiasel ning must-kärbsenäpil. Vurrud tähistavad 95% usalduspiire. N=15.

4. ARUTELU

Käesolevas töös leiti, et UPN nõrega töötlemine vähendas oluliselt kinnitunud sulebakterite arvukust. Võrreldes algse arvukusega vähenes kinnitunud bakterite arvukus kõikides UPN nõrega töödeldud gruppides. Tulemus kinnitab, et UPN nõrel on bakterite arvukust kontrollivad omadused. Kinnitunud sulebakterite hulgas on mitmeid sulgilagundavaid baktereid (Shawkey et al. 2005, Whitaker et al. 2005, Shawkey et al. 2006) ja laboritingimustes on näidatud, et need võivad väga kiiresti lagundada kogu sule struktuuri (Gunderson et al. 2008, Lo et al. 2012). Seetõttu on arvatud, et sulgilagundavad bakterid võivad kahjustada sulestiku konditsiooni ning põhjustada lennuvõime vähenemist ning termoregulatsiooni häireid (Booth et al. 1993, Burt & Ichida 1999, Clayton 1999, Møller et al. 2012), sulgede värvuse muutusi (Burt & Ichida 2004, Goldstein et al. 2004, Gunderson et al. 2008, Peele et al. 2009) ja sigimiskäitumise muutusi (Shawkey et al. 2007, Gunderson et al. 2009, Shawkey et al. 2009, Jacob et al. 2014a).

Kinnitunud sulebakterite hulgas on ka mitmeid patogeenseid baktereid, kes võivad põhjustada erinevaid haigusi või munade ning poegade hukkumist (Shawkey et al. 2005, Mennerat et al. 2009, Ruiz-de-Castaneda et al. 2011b, Soler et al. 2012). Seega on lindude jaoks oluline just kinnitunud bakterite arvukust kontrolli all hoida. Samuti on teada, et kinnitumine sulestruktuuridele tagab bakteritele stabiilsema elukeskkonna, mistõttu on neid raskem sulgedelt eemaldada (Lucas et al. 2003b, Reneerkens et al. 2008). Seega võib arvata, et mehaaniline eemaldamine (näiteks sugemine) pole kinnitunud bakterite arvukuse kontrollimiseks tõhus. UPN nõrega sulgede võidmine võib olla üks viise, kuidas linnud kahjulike sulebakterite arvukust mõjutada saavad. Erinevalt kinnitunud bakteritest ei mõjutanud UPN nõrega töötlemine oluliselt vabaltelavate bakterite arvukust. Vabaltelavad bakterid on tavaliselt linnule kahjutud ega mõjuta oluliselt linnu elukäiku (Shawkey et al. 2003, Saag et al. 2011b, Saag et al. 2012). Seega on tõenäoline, et lindude jaoks ei ole oluline nende arvukuse kontrollimine spetsiifiliste kaitsemehhanismide abil.

Varasemad uuringud UPN nõre mõju kohta sulebakterite arvukusele on andnud vastuolulisi tulemusi. Näiteks Czirjak et al. (2013) leidsid, et UPN eemaldamine ei mõjuta koduvarblase (*Passer domesticus*) kinnitunud bakterite arvukust. Giraudeau et al. (2013) piirasid sinikael-partidel (*Anas platyrhynchos*) juurdepääsu näärmele ning tuvastasid, et ligipääsu takistamine UPN ei mõjuta kinnitunud bakterite arvukust. Samas Shawkey et al.

(2003) ja Reneerkens et al. (2008) uuringud tuvastasid sarnaselt käesolevale tööle, et UPN nõre võib mõjutada sulestikus leiduvate mikroorganismide arvukust. Teisalt peab tõdema, et käesoleva uuringu puhul on tegu laborieksperimendiga ning laborikeskkonnas saadud tulemused pole alati üheselt ülekantavad looduslikele tingimustele. Mitmetes uurimustes (Czirjak et al. 2013, Giraudeau et al. 2013) on argumenteeritud, et nõre antimikroobsed omadused võivad olla ülehinnatud. Laboritingimustes lisatakse sulgedele tavaliselt suurem kogus UPN nõret, mis ei pruugi vastata looduses esinevatele kogustele. Seetõttu võib ka nõre mõju olla tugevam. Antud töös olid lisatud nõre kogused kontrollitud ning kõik nõrega töödeldud grupid said sama koguse lahjendatud UPN nõret. Leidub UPN nõre uuringuid, mis on läbi viidud kontrollimata UPN nõre kogustega (Shawkey et al. 2003). Lisaks kontrollitud nõre kogustele kasutati käesolevas uuringus bakterite arvukuse määramiseks läbivoolu tsütomeetrit, mis on täpsem meetod, kui söötmel kasvatatud bakterikolooniate loendamine. Senised sulestiku bakterite uuringud, kus on arvukuse määramiseks kasutatud läbivoolu tsütomeetriat, pärinevad kõik Eestist (Saag et al. 2011b, Kilgas et al. 2012a, Kilgas et al. 2012b, Saag et al. 2012). Antud meetod lubab mikroobide arvukust hinnata täpsemalt kui kultuurides kasvatamine, sest määratakse kõigi sulgedel elutsevate bakterite arvukus. Laboris söötmel pole samas võimalik kõiki bakteriliike kultiveerida.

Tulemused näitasid, et UPN nõrega töötlemine mõjutab negatiivselt kinnitunud bakterite arvukust. Siiski ei ole võimalik öelda, kuidas UPN nõre bakterite kasvu inhibeerib. Varasemalt on pakutud, et UPN nõre võib moodustada sulgedele kaitsva kihi ning takistada bakterikolooniate kinnitumist sulestruktuuridele (Reneerkens et al. 2008). Samuti on võimalik, et nõre koostisesse kuuluvad ühendid võivad inhibeerida kahjulike bakterite kasvu (Gunderson et al. 2009). Näiteks sisaldab vaenukäo UPN nõre sümbiontseid baktereid, kelle poolt sünteesisitud antimikroobsed ühendid takistavad patogeenide ning sulgilagundavate bakterite kasvu (Martin-Platero et al. 2006, Soler et al. 2008, Martin-Vivaldi et al. 2009). Samas pole teiste linnuliikide UPN nõredest sümbiontseid mikroorganisme leitud, mistõttu võiks arvata, et antud töös uuritud liikide (rasvatihane, must-kärbsenäpp, kodutuvi) nõrede antimikroobsed omadused tulenevad nõre keemilisest koostisest. Sellest lähtuvalt peaks edasi uurima, milline nõre koostisosa annab sellele antimikroobse omaduse.

Käesoleva töö tulemustest ilmnes, et erinevate linnuliikide UPN nõred mõjuvad bakterite arvukusele erinevalt. Eeldati, et kõige enam peaks kinnitunud bakterite arvukusele mõjuma linnu enda UPN nõre, kuna nõre antimikroobsed omadused võiksid olla evolutsioneerunud liigiomaselt ja kõige efektiivsem bakterite arvukuse kontrollimisel võiks olla indiviidi enda nõre. Must-kärbsenäpi puhul inhibeeriski kõige enam kinnitunud bakterite kasvu isendi enda nõre. Rasvatihase kinnitunud bakterite arvukus vähenes aga kõige rohkem kodutuvi nõrega töödeldud grupis (kuigi ka rasvatihase enda UPN nõrega töötlus mõjus eeldatud suunas). Võimalik, et rasvatihase kinnitunud bakterite arvukusele mõjus kodutuvi UPN nõre kõige tugevamalt, sest tegemist oli erinevate isendite UPN nõrede seguga. Lisaks on kodutuvi inimkaasleja ning linnakeskkonnas elavate lindude mikroobikooslused võivad erineda metsas elavate lindude mikroobikooslustest. On näidatud, et linnu elupaik ja selle keskkonnategurid ning lindude kokkupuuted erinevate mikroorganismidega võivad mõjutada UPN nõre koostist (Sweeney et al. 2004, Haribal et al. 2005). Seetõttu võivad ka linnalindude UPN nõre omadused olla teistsugused. Kahjuks on hetkel UPN nõre mõju ning uuritud linnuliikide mikroobikoosluste kohta vähe teada, mistõttu on saadud tulemusi keeruline põhjendada.

On teada, et bakterite arvukused ning kooslused võivad sõltuda linnu elupaigast. Bisson et al. (2009) leidsid, et bakterikooslused varieeruvad geograafiliselt ja lokaalselt elupaikade vahel. Samuti leidsid Saag et al. (2011b) ning Kilgas et al. (2012a) oma töödes, mis tehti samal uurimisalal käesoleva tööga, et lehtmetsas on rasvatihase sulebakterite arvukus kõrgem kui okasmetsas. Lisaks on Alt et al. (2015) näidanud, et lehtmetsas pesitsevatel must-kärbsenäppidel on rohkem vabaltelavaid baktereid kui okasmetsas pesitsevatel. Kuna leht- ja okasmetsas puutuvad linnud kokku erinevate substraatide ja seega ka bakteritega, võiks erinevates biotoopides elavatel lindudel olla erinevad UPN nõre mõjud. Siiski näitasid antud töö tulemused, et UPN nõrega töötlemise mõju sulebakterite arvukusele ei erinenud oluliselt biotoopide vahel. Eelnevad uuringud samalt uurimisalalt on leidnud, et biotoop mõjutab lindude sulebakterite arvukust (Saag et al. 2011b, Kilgas et al. 2012b, Alt et al. 2015). Vabaltelavate bakterite arvukuses oli küll näha trend, mis ühtis varasemate uuringute tulemusega (Saag et al. 2011b, Kilgas et al. 2012b, Alt et al. 2015) viidates, et lehtmetsas elavatel lindudel võiks sulgedel olla rohkem baktereid kui okasmetsas elavatel lindudel. Antud tulemus ei olnud siiski statistiliselt oluline. Erinevuse puudumine võib tuleneda vähesest statistilisest võimsusest, sest valimid biotoopide võrdlemisel olid

suhteliselt väikesed. Rasvatihase puhul võib erinevuse puudumine olla tegelik, sest tavatingimustes on okasmetsas nende pesitsustihedus tunduvalt madalam kui lehtmetsas (Mänd et al. 2005). Pesakaste kasutades võib aga rasvatihaste pesitsustihedus okasmetsas märkimisväärselt tõusta (Mänd et al. 2005), kuid on väheusutav, et mikroevolutsioonilised muutused nõre koostises on nii kiired kui elupaiga vahetus. Biotoobi mõju puudumine must-kärbsenäpi puhul viitab aga pigem sellele, et elupaik pole nõre koostise kujunemisel nii oluline, sest liik pesitseb nii okas- kui lehtmetsades.

Lisaks leiti, et kinnitunud bakterite arvukus oli kõrgem kui vabaltelavate bakterite arvukus, seda nii rasvatihase kui must-kärbsenäpi puhul. See langeb kokku varasemate uuringute tulemustega. Näiteks jõudsid sarnase tulemuseni Lucas et al. (2005), kes uurisid kuldnokkade bakterite arvukust ja Saag et al. (2011b), kes uurisid Edela-Eestis rasvatihaste bakterite arvukust. Rasvatihase kõrgem vabaltelavate bakterite arvukus võrreldes must-kärbsenäpiga võib olla tingitud liikide erinevast keskkonnakasutusest pesitsushooaja vältel. Varasemad tööd on näidanud, et lisaks mikroobikoosluste liigisisesele varieerumisele (Bisson et al. 2007, Saag et al. 2012) on suured erinevused ka linnuliikide vahel (Burt & Ichida 1999, Shawkey et al. 2006, Goodenough & Stallwood 2010, Saag et al. 2011a). Seega on väga tõenäoline, et rasvatihasel ning must-kärbsenäpil võivadki olla üsna erinevad sulebakterite kooslused ning seeläbi ka erinevad bakterite arvukused.

Samuti leiti, et vabaltelavate bakterite arvukus sõltub linnuliigist. Rasvatihase vabaltelavate sulebakterite arvukus on kõrgem kui must-kärbsenäpil. Erinevus vabaltelavate bakterite arvukuses kahe liigi vahel võib tulla nende erinevatest käitumuslikest aspektidest ning erinevast pesamaterjalist. Rasvatihased teevad oma pesa enamasti samblast ning loomakarvadest, must-kärbsenäpid kasutavad tavaliselt aga männikoore ebemeid ning kuivanud kõrsi, harva ka loomakarvu (Cramp & Perrins 1993, Hagemeyer & Blair 1997). Seega on võimalik, et pesaehituse käigus puutuvad rasvatihased rohkem kui must-kärbsenäpid kokku bakteririkka mullakeskkonnaga. Sellepärast võib olla nende sulgede vabaltelavate bakterite arvukus kõrgem. Varasemalt on näidatud, et rändlindude sulgedel on vähem baktereid kui paigalindudel (Bisson et al. 2009). Sellest lähtuvalt pakkusid Saag et al. (2011a), et üks põhjus, mis võiks seletada liikidevahelist erinevust, on rändsus. Must-kärbsenäpp on kaugrändur, kes talvitab Kesk-Aafrikas; rasvatihane on aga paigalind või lühimaarändur. Erinevused rändekäitumises suurendavad aga isendite kokkupuutevõimalusi erinevate keskkondade ja bakterikooslustega.

Siiski Saag et al. (2011a) leidsid, et liikidevahelised erinevused esinesid kinnitunud bakterite arvukustes. Antud töös rasvatihase ning must-kärbsenäpi kinnitunud bakterite arvukuste vahel olulisi erinevusi ei tuvastatud. Võttes arvesse nii Saag et al. (2011a) kui ka Bisson et al. (2009) ning ka käesoleva töö tulemusi, võib arvata, et rändsusel on mõju sulebakterite arvukusele. Sellegipoolest oleks tarvis läbi viia uuringuid, mis hindaksid rändsuse täpsemat mõju kinnitunud ning vabaltelavate bakterite arvukusele. Samuti oleks keskkonnast tuleneva erinevuse tuvastamiseks vaja määrata lisaks bakterite arvukusele ka nende liigiline koosseis ja võrrelda seda näiteks mullastiku bakterikooslusega, mida käesoleva töö raames ei tehtud.

KOKKUVÕTE

Ehkki viimastel aastatel on molekulaarsete ning mikrobioloogiliste uurimismeetodite kasutamine odavnenud ja lihtsustunud, on sulgedel elavatest mikroorganismidest ning nende mõjudest lindudele üsna vähe teada. Viimasel ajal on leitud, et sulestikus elavad mikrooskoopilised sümbiondid võivad oluliselt mõjutada lindude elukäiku. Sulgedelt on leitud mitmeid haigustekitajaid ning sulgilagundavaid baktereid, kes oma elutegevusega võivad mõjutada linnu kohasust. Uuringutes on leitud, et uropügiaalnäärme nõrel võib olla oluline roll bakterite arvukuse kontrollimisel.

Antud töö eesmärgiks oli uurida, kuidas mõjutab uropügiaalnäärme nõrega töötlemine sulebakterite arvukust. Välitööd viidi läbi 2012. aasta kevad-suvel Edela-Eestis Kilingi-Nõmme lähistel. Uuringus koguti 15 emase rasvatihase ning must-kärbsenäpi suled ning uropügiaalnäärme nõred. Katsesse kaasati linnud kahest erinevast biotoobist – leht- ning okasmetsast. Lindude suled jaotati erinevatesse gruppidesse ning töödeldi erinevate liikide (rasvatihane, must-kärbsenäpp, kodutuvi) uropügiaalnäärme nõredega. Analüüsi käigus määrati kinnitunud ning vabaltelavate bakterite arvukused.

Uropügiaalnäärme nõre mõjutas kinnitunud sulebakterite arvukust, ent ei mõjutanud vabaltelavate bakterite arvukust. See tulemus lubab arvata, et uropügiaalnäärme nõre võib tõepoolest olla oluline vahend sulebakterite arvukuse kontrollimiseks, sest just kinnitunud bakterite hulgas on mitmeid linnule kahjulikke baktereid. Must-kärbsenäppide puhul tuvastati, et uropügiaalnäärme nõre antimikroobne mõju oli kõige tugevam, kui sulgi oli töödeldud linnu enda nõrega. Rasvatihase kinnitunud bakteritele mõjus kõige tugevamalt kodutuvi nõre. Varasemalt on näidatud, et eri biotoopides (lehtmets ja okasmets) elavatel lindudel on erinevad bakterite arvukused, mistõttu võiks ka uropügiaalnäärme nõre töötlused biotoobiti erineda. Antud uuringus vastavaid erinevusi ei tuvastatud. Võimalik, et käesoleva töö valim oli liiga väike, et erinevused välja tuleksid.

SUMMARY

Effect of uropygial secretion on plumage bacterial load in two passerine birds

Despite recent improvements and availability of molecular and microbiological techniques, plumage microorganisms and their impact on birds remain largely unknown. Current studies have proposed that plumage microbes may play an important role in shaping the life histories of birds. Avian plumage harbours various pathogens and feather-degrading bacteria, which have the potential to reduce birds' fitness. Studies have shown that uropygial secretion could affect plumage bacterial load.

The objective of this study was to investigate the effect of uropygial secretion on plumage bacterial load. The study was conducted near Kilingi-Nõmme in SW Estonia in 2012. 15 female great tits (*Parus major*) and pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*) were captured. Feathers and uropygial secretions were collected from each individual. Birds from two habitats (coniferous and deciduous forest) were included in the study. Also, the uropygial secretion of rock dove (*Columba livia*) was collected. Collected feathers were divided into groups and treated with different uropygial secretions. Densities of free-living and attached bacteria were determined.

Uropygial secretion had a significant antimicrobial effect on attached bacterial load. Secretion did not affect the density of free-living bacteria. This result suggests that the uropygial gland and its secretion might be an important defence mechanism against harmful bacteria that inhabit feathers. In pied flycatchers it was shown that birds' own uropygial secretion inhibits attached bacteria the most. In great tits attached bacterial load was most affected by the uropygial secretion of rock doves (*Columba livia*). Previous studies have shown that birds living in various habitats exhibit great variation in plumage bacterial load, therefore uropygial secretions of birds from varied habitats might have different properties. In this experiment, uropygial secretion treatments did not vary between habitats. It is possible that sample sizes were too low to detect statistical significance.

TÄNUAVALDUSED

Kõige suurem tänu minu juhendajale Gretele, kelle kannatlikkus ning abi olid asendamatud. Suur aitäh Marko Mägi, Pauli Saag ja Jaanis Lodjak, et aitasite nõu ning jõuga kaasa käesoleva töö valmimisele. Veel tahan tänada TÜ lindude käitumisökoloogia töörühma liikmeid, kellel on olnud osa töös kasutatud andmete kogumises ning kes andsid magistritöö valmimise ajal konstruktiivset kriitikat.

Antud tööd rahastati Eesti Teadusfondi grandiprojektist ETF8566 ja Eesti Teadus- ja Haridusministeeriumi poolt sihtfinantseeritavast projektist nr 01800004s09.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Alt, G., Saag, P., Mägi, M., Kisand, V. & Mänd, R. (2015).** "Manipulation of parental effort affects plumage bacterial load in a wild passerine." *Oecologia*: 1-9.
- Amo, L., Avilés, J. M., Parejo, D., Peña, A., Rodríguez, J. & Tomás, G. (2012).** "Sex recognition by odour and variation in the uropygial gland secretion in starlings." *Journal of Animal Ecology* 81: 605-613.
- Archie, E. A. & Theis, K. R. (2011).** "Animal behaviour meets microbial ecology." *Animal Behaviour* 82: 425-436.
- Bisson, I.-A., Marra, P., Burt, E., Jr., Sikaroodi, M. & Gillevet, P. (2007).** "A Molecular Comparison of Plumage and Soil Bacteria Across Biogeographic, Ecological, and Taxonomic Scales." *Microbial Ecology* 54: 65-81.
- Bisson, I.-A., Marra, P., Burt Jr, E., Sikaroodi, M. & Gillevet, P. (2009).** "Variation in Plumage Microbiota Depends on Season and Migration." *Microbial Ecology* 58: 212-220.
- Booth, D. T., Clayton, D. H. & Block, B. A. (1993).** "Experimental demonstration of the energetic cost of parasitism in free-ranging hosts." *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 253: 125-129.
- Burger, B., Reiter, B., Borzyk, O. & Du Plessis, M. (2004).** "Avian exocrine secretions. I. Chemical characterization of the volatile fraction of the uropygial secretion of the green woodhoopoe, *Phoeniculus purpureus*." *Journal of chemical ecology* 30: 1603-1611.
- Burt, E. H. (2009).** "A future with feather-degrading bacteria." *Journal of Avian Biology* 40: 349-351.
- Burt, E. H. & Ichida, J. M. (1999).** "Occurrence of feather-degrading bacilli in the plumage of birds." *The Auk*: 364-372.
- Burt, E. H. & Ichida, J. M. (2004).** "Gloger's rule, feather-degrading bacteria, and color variation among song sparrows." *Condor* 106: 681-686.
- Christe, P., Richner, H. & Oppliger, A. (1996).** "Of great tits and fleas: Sleep baby sleep." *Animal Behaviour* 52: 1087-1092.
- Clayton, D. H. (1999).** "Feather-busting bacteria." *Auk* 116: 302-304.
- Clayton, D. H., Koop, J. A., Harbison, C. W., Moyer, B. R. & Bush, S. E. (2010).** "How birds combat ectoparasites." *Open Ornithology Journal* 3: 41-71.

- Clayton, D. H., Lee, P. L. M., Tompkins, D. M. & Brodic Iii, E. D. (1999).** "Reciprocal natural selection on host-parasite phenotypes." *American Naturalist* 154: 261-270.
- Clayton, D. H. & Wolfe, N. D. (1993).** "The adaptive significance of self-medication." *Trends in Ecology & Evolution* 8: 60-63.
- Cotgreave, P. & Clayton, D. H. (1994).** "Comparative Analysis of Time Spent Grooming By Birds in Relation To Parasite Load." *Behaviour* 131: 171-187.
- Cramp, S. & Perrins, C. (1993).** *The Birds of the Western Palearctic—vol. 7* Oxford Univ. Press, Oxford.
- Czirjak, G. A., Pap, P. L., Vagasi, C. I., Giraudeau, M., Muresan, C., Mirleau, P. & Heeb, P. (2013).** "Preen gland removal increases plumage bacterial load but not that of feather-degrading bacteria." *Naturwissenschaften* 100: 145-151.
- Galvan, I. & Sanz, J. (2006).** "Feather mite abundance increases with uropygial gland size and plumage yellowness in Great Tits *Parus major*." *Ibis (Lond 1859)* 148: 687 - 697.
- Gill, F. (2007).** *Ornithology*. Third editon, New York, USA: WH Freeman and Company.
- Giraudeau, M., Czirják, G., Duval, C., Bretagnolle, V., Gutierrez, C., Guillon, N. & Heeb, P. (2013).** "Effect of preen oil on plumage bacteria: an experimental test with the mallard." *Behavioural Processes* 92: 1-5.
- Goldstein, G., Flory, K. R., Browne, B. A., Majid, S., Ichida, J. M., Burt Jr, E. H. & Grubb Jr, T. (2004).** "Bacterial degradation of black and white feathers." *The Auk* 121: 656-659.
- Goodenough, A. E. & Stallwood, B. (2010).** "Intraspecific variation and interspecific differences in the bacterial and fungal assemblages of Blue Tit (*Cyanistes caeruleus*) and Great Tit (*Parus major*) nests." *Microbial Ecology* 59: 221-232.
- Gunderson, A., Forsyth, M. & Swaddle, J. (2009).** "Evidence that plumage bacteria influence feather coloration and body condition of eastern bluebirds *Sialia sialis*." *Journal of Avian Biology* 40: 440 - 447.
- Gunderson, A. R. (2008).** "Feather-degrading bacteria: a new frontier in avian and host-parasite research?" *The Auk* 125: 972-979.
- Gunderson, A. R., Frame, A. M., Swaddle, J. P. & Forsyth, M. H. (2008).** "Resistance of melanized feathers to bacterial degradation: is it really so black and white?" *Journal of Avian Biology* 39: 539-545.
- Hagemeijer, W. J. & Blair, M. J. (1997).** *The EBCC atlas of European breeding birds: their distribution and abundance*, Poyser London.

- Haribal, M., Dhondt, A. & Rodriguez, E. (2009).** "Diversity in chemical compositions of preen gland secretions of tropical birds." *Biochemical Systematics and Ecology* 37: 80-90.
- Haribal, M., Dhondt, A. A., Rosane, D. & Rodriguez, E. (2005).** "Chemistry of preen gland secretions of passerines: different pathways to same goal? why?" *Chemoecology* 15: 251-260.
- Jacob, J., Eigener, U. & Hoppe, U. (1997).** "The structure of preen gland waxes from pelecaniform birds containing 3,7-dimethyloctan-1-ol - An active ingredient against dermatophytes." *Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences* 52: 114-123.
- Jacob, J. & Ziswiler, V. (1982).** "The uropygial gland." *Avian biology* 6: 199-324.
- Jacob, S., Colmas, L., Parthuisot, N. & Heeb, P. (2014a).** "Do feather-degrading bacteria actually degrade feather colour? No significant effects of plumage microbiome modifications on feather colouration in wild great tits." *Naturwissenschaften*: 1-10.
- Jacob, S., Immer, A., Leclaire, S., Parthuisot, N., Ducamp, C., Espinasse, G. & Heeb, P. (2014b).** "Uropygial gland size and composition varies according to experimentally modified microbiome in Great tits." *BMC evolutionary biology* 14: 134.
- Kilgas, P., Saag, P., Mägi, M., Edenberg, M., Tilgar, V. & Mänd, R. (2012a).** "Variation in assemblages of feather bacteria in relation to plumage color in female great tits." *The Condor* 114: 606-611.
- Kilgas, P., Saag, P., Mägi, M., Tilgar, V. & Mänd, R. (2012b).** "Plumage bacterial load increases during nest-building in a passerine bird." *Journal of Ornithology* 153: 833-838.
- Kolattukudy, P. E., Bohnet, S. & Rogers, L. (1987).** "Diesters of 3-hydroxy fatty-acids produced by the uropygial glands of female Mallards uniquely during the mating season. ." *Journal of Lipid Research* 28: 582-588.
- Kulkarni, S. & Heeb, P. (2007).** "Social and sexual behaviours aid transmission of bacteria in birds." *Behavioral Processes* 74: 88 - 92.
- Lo, W.-H., Too, J.-R. & Wu, J.-Y. (2012).** "Production of keratinolytic enzyme by an indigenous feather-degrading strain *Bacillus cereus* Wu2." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 114: 640-647.

- Lucas, F. S., Bertru, G. & Höfle, M. G. (2003a).** "Characterization of free-living and attached bacteria in sediments colonized by *Hediste diversicolor*." *Aquatic microbial ecology* 32: 165-174.
- Lucas, F. S., Broennimann, O., Febbraro, I. & Heeb, P. (2003b).** "High Diversity among Feather-Degrading Bacteria from a Dry Meadow Soil." *Microbial Ecology* 45: 282-290.
- Lucas, F. S., Moureau, B., Jourdie, V. & Heeb, P. (2005).** "Brood size modifications affect plumage bacterial assemblages of European starlings." *Molecular Ecology* 14: 639-646.
- Martin-Platero, A. M., Valdivia, E., Ruiz-Rodriguez, M., Soler, J. J., Martin-Vivaldi, M., Maqueda, M. & Martinez-Bueno, M. (2006).** "Characterization of antimicrobial substances produced by *Enterococcus faecalis* MRR 10-3, isolated from the uropygial gland of the hoopoe (*Upupa epops*)." *Applied and Environmental Microbiology* 72: 4245-4249.
- Martin-Vivaldi, M., Pena, A., Peralta-Sánchez, J., Sanchez, L., Ananou, S., Ruiz-Rodriguez, M. & Soler, J. (2010).** "Antimicrobial chemicals in hoopoe preen secretions are produced by symbiotic bacteria." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277: 123-130.
- Martin-Vivaldi, M., Ruiz-Rodriguez, M., Soler, J., Peralta-Sánchez, J., Mendez, M., Valdivia, E., Martin-Platero, A. & Martinez-Bueno, M. (2009).** "Seasonal, sexual and developmental differences in hoopoe *Upupa epops* preen gland morphology and secretions: evidence for a role of bacteria." *Journal of Avian Biology* 40: 191 - 205.
- McFall-Ngai, M., Hadfield, M., Bosch, T., Carey, H., Domazet-Loaso, T., Douglas, A., Dübilier, N., Eberl, G., Fukami, T., Gilbert, S., Hentschel, U., King, N., Kjelleberg, S., Knoll, A., Kremer, N., Mazmanian, S., Metcalf, J., Neelson, K., Pierce, N., Rawls, J., Reid, A., Ruby, E., Rumpho, M., Sanders, J., Tautz, D. & Wernegreen, J. (2013).** "Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 3229 - 3236.
- Mennerat, A., Perret, P., Bourgault, P., Blondel, J., Gimenez, O., Thomas, D. W., Heeb, P. & Lambrechts, M. M. (2009).** "Aromatic plants in nests of blue tits: positive effects on nestlings." *Animal Behaviour* 77: 569-574.

- Møller, A., Peralta-Sánchez, J., Nielsen, J., López-Hernández, E. & Soler, J. (2012).** "Goshawk prey have more bacteria than non-prey." *Journal of Animal Ecology* 81: 403-410.
- Møller, A. P., Czirjak, G. Á. & Heeb, P. (2009).** "Feather micro-organisms and uropygial antimicrobial defences in a colonial passerine bird." *Functional Ecology* 23: 1097-1102.
- Møller, A. P., Erritzøe, J. & Rózsa, L. (2010).** "Ectoparasites, uropygial glands and hatching success in birds." *Oecologia* 163: 303-311.
- Montalti, D., Gutiérrez, A. M., Reboredo, G. & Salibián, A. (2005).** "The chemical composition of the uropygial gland secretion of rock dove *Columba livia*." *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 140: 275-279.
- Montalti, D. & Salibián, A. (2000).** "Uropygial gland size and avian habitat." *Ornitologia Neotropical* 11: 297-306.
- Moyer, B., Rock, A. N., Clayton, D. H. & Prum, R. (2003).** "Experimental test of the importance of preen oil in rock doves (*Columba livia*)." *The Auk* 120: 490-496.
- Mägi, M. & Mänd, R. (2004).** "Habitat differences in allocation of eggs between successive breeding attempts in great tits (*Parus major*)." *Ecoscience*: 361-369.
- Mänd, R., Tilgar, V., Lõhmus, A., Leivits & Agu (2005).** "Providing nest boxes for hole-nesting birds – Does habitat matter?" *Biodiversity & Conservation* 14: 1823-1840.
- Pap, P. L., Vágási, C. I., Osváth, G., Mureşan, C. & Barta, Z. (2010).** "Seasonality in the uropygial gland size and feather mite abundance in house sparrows *Passer domesticus*: natural covariation and an experiment." *Journal of Avian Biology* 41: 653-661.
- Peele, A. M., Burt Jr, E. H., Schroeder, M. R. & Greenberg, R. S. (2009).** "Dark color of the coastal plain swamp sparrow (*Melospiza georgiana nigrescens*) may be an evolutionary response to occurrence and abundance of salt-tolerant feather-degrading bacilli in its plumage." *The Auk* 126: 531-535.
- Peralta-Sánchez, J., Martin-Vivaldi, M., Martin-Platero, A., Martinez-Bueno, M., Onate, M., Ruiz-Rodriguez, M. & Soler, J. (2012).** "Avian life history traits influence eggshell bacterial loads: a comparative analysis." *Ibis* 4: 725 - 737.

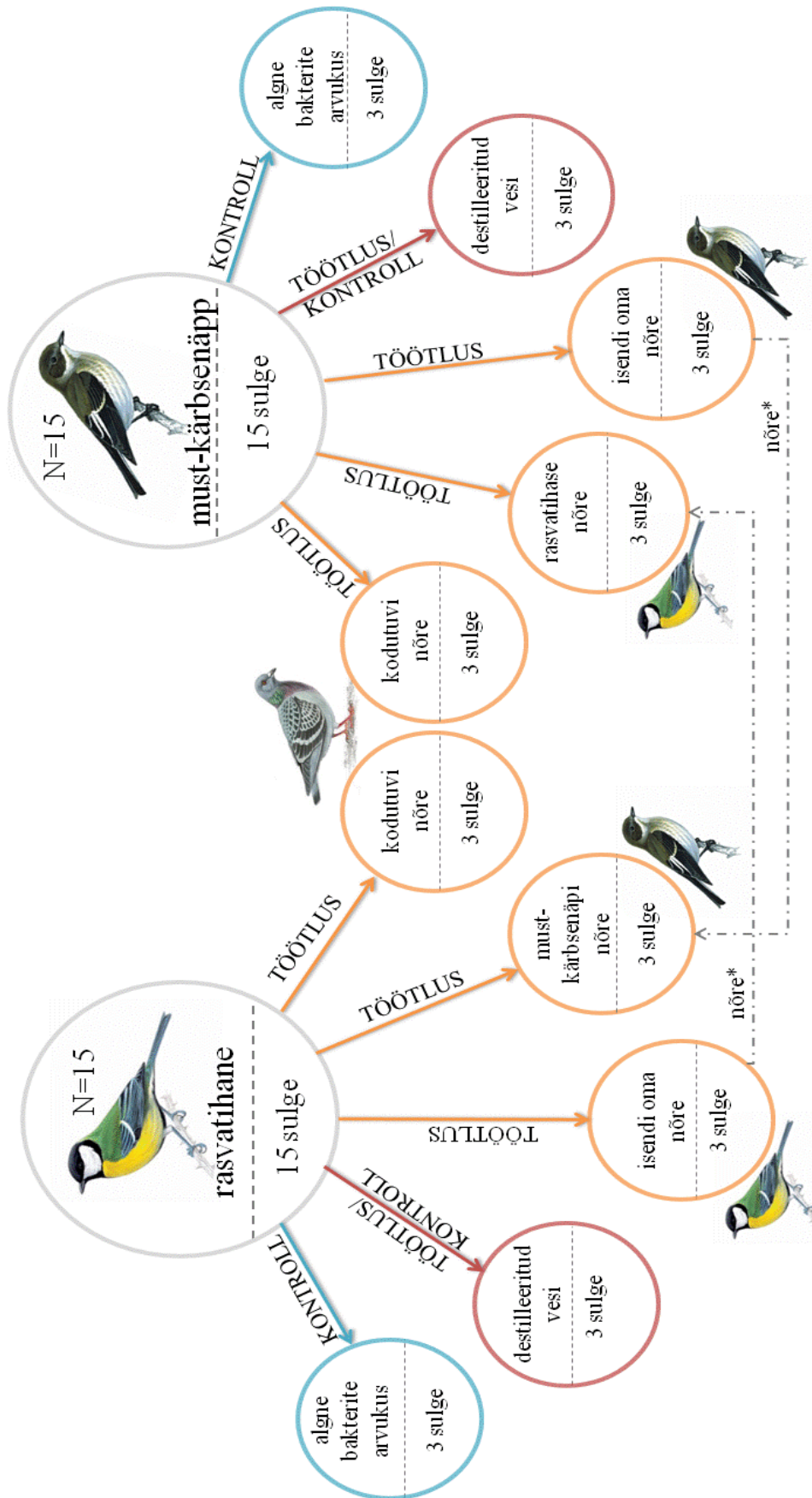
- Peralta-Sánchez, J., Soler, J., Martín-Platero, A., Knight, R., Martínez-Bueno, M. & Møller, A. (2014).** "Eggshell Bacterial Load Is Related to Antimicrobial Properties of Feathers Lining Barn Swallow Nests." *Microbial Ecology* 67: 480-487.
- Petit, C., Hossaert-McKey, M., Perret, P., Blondel, J. & Lambrechts, M. M. (2002).** "Blue tits use selected plants and olfaction to maintain an aromatic environment for nestlings." *Ecology Letters* 5: 585-589.
- Reneerkens, J., Piersma, T. & Sinninghe Damsté, J. S. (2002).** "Sandpipers (Scolopacidae) switch from monoester to diester preen waxes during courtship and incubation, but why?" *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 269: 2135-2139.
- Reneerkens, J., Piersma, T. & Sinninghe Damsté, J. S. (2005).** "Switch to diester preen waxes may reduce avian nest predation by mammalian predators using olfactory cues." *Journal of Experimental Biology* 208: 4199-4202.
- Reneerkens, J., Versteegh, M. A., Schneider, A. M., Piersma, T. & Burt, E. H. (2008).** "Seasonally changing preen-wax composition: Red Knots' (*Calidris canutus*) flexible defense against feather-degrading bacteria?" *Auk* 125: 285-290.
- Revis, H. C., Waller, D. A. & Brittingham, M. (2004).** "Bactericidal and fungicidal activity of ant chemicals on feather parasites: an evaluation of anting behavior as a method of self-medication in songbirds." *The Auk* 121: 1262-1268.
- Ruiz-de-Castaneda, R., Vela, A., Lobato, E., Briones, V. & Moreno, J. (2011a).** "Bacterial loads on eggshells of the Pied Flycatcher: environmental and maternal factors." *Condor* 113: 200 - 208.
- Ruiz-de-Castaneda, R., Vela, A., Lobato, E., Briones, V. & Moreno, J. (2011b).** "Prevalence of potentially pathogenic culturable bacteria on eggshells and in cloacae of female Pied Flycatchers in a temperate habitat in central Spain." *Journal of Field Ornithology* 82: 215 - 224.
- Ruiz-Rodriguez, M., Valdivia, E., Soler, J., Martín-Vivaldi, M., Martín-Platero, a. M. & Martínez-Bueno, M. (2009).** "Symbiotic bacteria living in the hoopoe's uropygial gland prevent feather degradation." *Journal of Experimental Biology* 212: 3621-3626.
- Saag, P., Kilgas, P., Mägi, M., Tilgar, V. & Mänd, R. (2012).** "Inter-annual and body topographic consistency in the plumage bacterial load of Great Tits." *Journal of Field Ornithology* 83: 94-100.

- Saag, P., Mänd, R., Tilgar, V., Kilgas, P., Mägi, M. & Rasmann, E. (2011a).** "Plumage bacterial load is related to species, sex, biometrics and fledging success in co-occurring cavity-breeding passerines." *Acta Ornithologica* 46: 191-201.
- Saag, P., Tilgar, V., Mänd, R., Kilgas, P. & Mägi, M. (2011b).** "Plumage Bacterial Assemblages in a Breeding Wild Passerine: Relationships with Ecological Factors and Body Condition." *Microbial Ecology* 61: 740-749.
- Salibián, A. & Montalti, D. (2009).** "Physiological and biochemical aspects of the avian uropygial gland." *Brazilian Journal of Biology* 69: 437-446.
- Saranathan, V. & Burt, E. (2007).** "Sunlight on feathers inhibits feather-degrading bacteria." *The Wilson Journal of Ornithology* 119: 239 - 245.
- Shawkey, M., Pillai, S., Hill, G., Siefferman, L. & Roberts, S. (2007).** "Bacteria as an agent for change in structural plumage color: correlational and experimental evidence." *The American Naturalist* 169: S112 - S121.
- Shawkey, M. D., Hussain, M. J., Strong, A. L., Hagelin, J. C., Vollmer, A. C. & Hill, G. E. (2006).** "Use of culture-independent methods to compare bacterial assemblages on feathers of crested and least auklets (*Aethia cristatella* and *Aethia pusilla*) with those of passerines." *Waterbirds* 29: 507-511.
- Shawkey, M. D., Mills, K. L., Dale, C. & Hill, G. E. (2005).** "Microbial Diversity of Wild Bird Feathers Revealed through Culture-Based and Culture-Independent Techniques." *Microbial Ecology* 50: 40-47.
- Shawkey, M. D., Pillai, S. R. & Hill, G. E. (2003).** "Chemical warfare? Effects of uropygial oil on feather-degrading bacteria." *Journal of Avian Biology* 34: 345-349.
- Shawkey, M. D., Pillai, S. R. & Hill, G. E. (2009).** "Do feather-degrading bacteria affect sexually selected plumage color?" *Naturwissenschaften* 96: 123-128.
- Soler, J., Martin-Vivaldi, M., Peralta-Sanchez, J., Ruiz-Rodriguez, M. & Ruiz, M. (2010).** "Antibiotic-producing bacteria as a possible defence of birds against pathogenic microorganisms." *Open Ornithology Journal* 2: 29 - 36.
- Soler, J., Peralta-Sanchez, J., Martin-Platero, A., Martin-Vivaldi, M., Martinez-Bueno, M. & Moller, A. (2012).** "The evolution of size of the uropygial gland: mutualistic feather mites and uropygial secretion reduce bacterial loads of eggshells and hatching failures of European birds." *Journal of Evolutionary Biology* 25: 1779 - 1791.

- Soler, J. J., Martín-Vivaldi, M., Ruiz-Rodríguez, M., Valdivia, E., Martín-Platero, A. M., Martínez-Bueno, M., Peralta-Sánchez, J. M. & Méndez, M. (2008).** "Symbiotic association between hoopoes and antibiotic-producing bacteria that live in their uropygial gland." *Functional Ecology* 22: 864-871.
- Statsoft.Inc (2012)** STATISTICA 12. StatSoft Statistical Software
<http://www.statsoft.com/>
- Steadman, D. W. (2001).** "Pigeons and Doves: A Guide to the Pigeons and Doves of the World." *The Auk* 118: 1117-1118.
- Sweeney, R. J., Lovette, I. J., Harvey, E. L. & Zink, R. (2004).** "Evolutionary variation in feather waxes of passerine birds." *The Auk* 121: 435-445.
- Waite, J. L., Henry, A. R. & Clayton, D. H. (2012).** "How effective is preening against mobile ectoparasites? An experimental test with pigeons and hippoboscids." *International Journal for Parasitology* 42: 463-467.
- Whitaker, J. M., Cristol, D. A. & Forsyth, M. H. (2005).** "Prevalence and genetic diversity of *Bacillus licheniformis* in avian plumage." *Journal of Field Ornithology* 76: 264-270.
- White, J., Mirleau, P., Danchin, E., Mulard, H., Hatch, S. A., Heeb, P. & Wagner, R. H. (2010).** "Sexually transmitted bacteria affect female cloacal assemblages in a wild bird." *Ecology Letters* 13: 1515-1524.
- Whittaker, D. J., Soini, H. A., Atwell, J. W., Hollars, C., Novotny, M. V. & Ketterson, E. D. (2010).** "Songbird chemosignals: volatile compounds in preen gland secretions vary among individuals, sexes, and populations." *Behavioral Ecology* 21: 608-614.
- Vincze, O., Vagasi, C. I., Kovacs, I., Galvan, I. & Pap, P. L. (2013).** "Sources of variation in uropygial gland size in European birds." *Biological Journal of the Linnean Society* 110: 543-563.

LISAD

Lisa 1. Rasvatihaste ning must-kärbsenäppide sulgede jaotamine kontroll- ning töötlusgruppidesse.



*Rasvatihastest ja must-kärbsenäppidest moodustati juhuslikud paarid ning neilt kogitud nõret kasutati vastastikku sulgede töötlemiseks.

Lisa 2. Rasvatihase ja must-kärbsenäpi kinnitunud ning vabaltelavate bakterite keskmised (X), miinimum (min) ja maksimum (max) arvukused ühe mg sule kohta.

Rasvatihane (Pm)

	Kinnitunud			Vabaltelavad		
	X	Min	Max	X	Min	Max
Algne arvukus	14072	2069	75625	1757	380	3976
Vesi	33341	716	175661	13792	180	174205
Oma nõre	18721	144	75835	24251	254	188160
Fh nõre	14358	224	60632	22692	257	150891
Tuvi nõre	1841	117	12267	13153	241	139423

Must-kärbsenäpp (Fh)

Algne arvukus	52238	773	230658	1200	148	4219
Vesi	57209	316	280206	1095	107	4931
Oma nõre	7378	133	31480	842	130	3229
Pm nõre	19732	109	136938	983	104	5286
Tuvi nõre	19451	436	71954	944	97	5223

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, _____ Aile Sumberg _____,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

UROPÜGIAALNÄÄRME NÕRE MÕJU SULESTIKU BAKTERITE ARVUKUSELE
KAHEL VÄRVULISEL,

mille juhendaja on _____ Grete Alt _____,

1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **25.05.2015**