

TARTU ÜLIKOOL
BIOLOOGIA-GEOGRAAFIA TEADUSKOND
ZOOLOOGIA JA HÜDROBIOLOOGIA INSTITUUT
LOOMAÖKOLOOGIA ÕPPETOOL

ULVI KARU

**EKSPERIMENTAALSE KOKTSIIDINAKKUSE MÕJU
ROHEVINTIDE (*CARDUELIS CHLORIS*)
TERVISLIKULE SEISUNDILE JA SULESTIKU
VÄRVUSELE**

Magistritöö

Juhendaja: PEETER HÕRAK, Ph.D.

TARTU 2004

Sisukord

1. Sissejuhatus	3
1.1 Parasiitide vahendatud suguline valik	3
1.2 Parasiitide roll peremehe elukäigus	4
1.3 Karotinoidne süsteem kui signaaltunnus	4
1.4 Töös kasutatud konditsiooninäitajad	7
2. Materjal ja meetoodika	9
2.1 Uurimisobjektid	9
2.2 Üldandmed	11
2.3 Katse protokoll	11
2.4 Analüüsid	12
3. Tulemused	15
3.1 Manipulatsiooni mõju nakkusele	15
3.2 Manipulatsiooni mõju konditsiooninäitajatele	16
3.3 Manipulatsiooni mõju süsteemi värvusele	16
4. Arutelu	21
4.1 Manipulatsiooni mõju nakkusele	21
4.2 Manipulatsiooni mõju konditsiooninäitajatele	22
4.3 Manipulatsiooni mõju süsteemi värvusele	25
Kokkuvõte	27
Summary	28
Tänuavaldused	29
Kasutatud kirjandus	30

1. Sissejuhatus.

1.1 Parasiitide vahendatud suguline valik

Suguline valik on üks loodusliku valiku erivorme, mis väljub isaste võimes olla paarumiskonkurentsias edukas (Krebs ja Davies 1993). Sugulises valikus mängivad olulist rolli sekundaarsed sootunnused – morfoloogilised ja käitumuslikud soospetsiifilised tunnused, mis arenevad pärast esmast sugulist diferentseerumist (Clayton 1991). Sekundaarsed sootunnused on enamasti silmatorkavad ja sellest tulenevalt vähendavad nende kandja võimalusi ellu jääda, ent samas suurendavad nende kandja geenide tõenäosust sattuda järgmisesse põlvkonda.

Üha enam uuringuid evolutsioonilises loomaökoogias keskendub parasiitide rollile peremehe elukäigus ja eelkõige sugulises valikus. Darwini (1871) poolt väljapakutud sugulise valiku teooria kohaselt on isastel loomad elinevad silmatorkavad sootunnused välja arenenud emastepoolse valiku tulemusena – emased eelistavad enam ornamenteeritud isaseid. Mis aga emased sellise eelistuseni viinud on, selle kohta Darwinil seletust ei olnud. Üheks tunnustatumaks seletuseks ekstravagantsete sootunnuste arengu kohta on Zahavi (1975) händikäp-printsiip. Selle järgi saavad toretsevaid ja silmatorkavaid sootunnuseid, mis on nende kandjale ilmselt kahjulikud ja vähendavad võimalusi ellu jääda, endale lubada vaid väga heas konditsioonis isased. Seega signaliseerivad ekstravagantsed sekundaarsed sootunnused nende kandja kvaliteedist. Kuna ausad signaalid on kallid, välistab see signaali võltsimise.

Hamiltoni ja Zukki (1982) hüpoteesi järgi parasiitide vahendatud sugulise valiku kohta annavad isaste ekstravagantsed sootunnused märku nende parasiidiresistentsusest. Kuna sekundaarsete sootunnuste väljaarendamine on kulukas, saavad ekstravagantseid sootunnuseid endale lubada ainult need isendid, kes ei pea tunnuste väljaarendamise ajal võitlema nakkusega ja saavad seetõttu rohkem ressursse suunata sekundaarsete sootunnuste väljaarendamisesse. Seega peaks enam ornamenteeritud isased olema kõrgema parasiidiresistentsusega ja seetõttu emaste poolt eelistatud, kuna paarudes sellise isasega on emastel lootust saada parasiidiresistentseid järglasi eeldusel, et parasiidiresistentsus on päritav. Resistentsus kehtib muidugi antud momendil keskkonnas esinevate parasiitide suhtes.

1.2 Parasiitide roll peremehe elukäigus.

Evolutsioonilise loomaökoloogia üks keskseid kontseptsioone on lõivuhete (*trade-off*) esinemine isendi kohasuse eri komponentide vahel. Lõivusuhe tekib siis, kui mingisugune kohasusele positiivselt mõjuv funktsioon on põhjuslikus seoses teise, kohasusele negatiivselt mõjuva funktsiooniga. Füsioloogiline lõivusuhe tekib olukorras, kus mingisugust piiratud ressursi tuleb jaotada kahe või enama funktsiooni vahel (Stearns 1989).

Lõivuhete mõistmise kontekstis on palju tähelepanu pälvinud parasitaarsete infektsioonide mõju organismi eri funktsioonidele. Parasiidid ei vähenda mitte ainult peremehe ressursse, vaid mõjutavad ka elukäiguomadusi – kui isend on nakatunud, siis optimaalne ressursside paigutus eri funktsioonidele on hoopis teistsugune kui tervel isendil (Agnew jt ülevaade 2000). Parasiidivastase kaitse kõrge hind tuleneb immuunsüsteemi kulukusest – immuunvastuse tekitamine on energeetiliselt kulukas, selle käigus tekkinud vabad radikaalid võivad kahjustada peremeest ennast ning immuunfunktsioon võib kasutada ressursse, mida isend saaks kasutada ka teisteks funktsioonideks (Owens 1999 ülevaade). Seega peaks peremehe võime ennast parasiitide vastu kaitsta interakteeruma ja konkureerima kõigi teiste tema organismi funktsioonidega, sh ka sugulises valikus oluliste signaaltunnuste väljaarendamisega (Sheldon ja Verhulst 1996). Nii võibki tekkida füsioloogiline lõivusuhe immuunfunktsiooni ja organismi teiste funktsioonide vahel.

Et immuunsüsteemi aktiveerimine ja parasiitide vastane kaitse on energeetiliselt kulukas ja mõjutab negatiivselt isendi konditsiooninäitajaid, on tõestatud paljudes katsetes (Nordling 1998, Hõrak jt 2000, Lindström 2000, (Møller 2000, Norris 2000 ülevaade, Ots jt 2001, Martin jt 2001, Zuk & Stoehr ülevaade 2002, Martin jt 2003). Samuti on näidatud parasiitide negatiivset mõju sekundaarsete sootunnuste väljaarendamisele (Zuk jt 1998, Møller jt 2000 ülevaade). Ent milliste konkreetsete mehhanismidega parasiidid mõjutavad isendi funktsioone ja pärsivad sekundaarsete sootunnuste arengut, pole veel kaugeltki selge.

1.3 Karotinoidne sulestik kui signaaltunnus.

Karotinoidid on looduses laialt levinud rasvlahustuvad pigmendid, mida suudavad sünteesida bakterid, seened, mõned vetikad ja kõrgemad taimed. Karotinoidid esinevad peamiselt taimede kromo- ja kloroplastides, kus nad kaitsevad

fotosünteesipigmente fotoooksüdatsiooni eest ning peegeldavad kollast, punast ja oranži valgust. Karotinoidid jagunevad karotiinideks (α -, β -, ja γ -karotiinid) ja ksantofüllideks (luteiin, zeaksantiin jt). Loomorganismid neid ise sünteesida ei saa ja seega peavad nad vajaliku koguse karotinoide omandama toiduga (Vershinin 1999). Karotinoidid mängivad olulist rolli paljudes organismi funktsioonides: immuunsüsteemis, närvisüsteemis, seedesüsteemis, endokriinsüsteemis ja biokeemilistes interaktsioonides (Lozano 1994, Olson ja Owens ülevaade 1998, Møller jt ülevaade 2000). Kuna arvatakse, et loomorganismide jaoks on karotinoidid piiratud ressurs (Olson ja Owens ülevaade 1998), võib tekkida lõivsuhe karotinoidide suunamisel sekundaarsetesse sootunnustesse või füsioloogilistesse protsessidesse. Signaaltunnustesse suunatud karotinoide organism enam teistes funktsioonides kasutada ei saa (Lozano 1994, Olson ja Owens ülevaade 1998), seega saab ainult heas konditsioonis ja terve isend, kes ei pea samal ajal võitlema nakkusega, kasutada karotinoide sekundaarsete sootunnuste eksponeerimiseks (Brawner jt 2000). Seega võiks eredamad karotinoidsed tunnused signaliseerida isase parasiidiresistentsusest ja eredamad isased peaks olema emaste poolt eelistatud. Paljud uuringud ongi näidanud, et enam ornamenteeritud karotinoidsete tunnustega isastel on vähem parasiite (Zuk jt 1995, Nolan jt 1998, Figuerola 1999, Harper 1999, Zahn & Rothstein 1999, Tschirren jt 2003) ja et eredamate karotinoidse tunnustega isased on emaste poolt eelistatud (Hillgarth 1990, Blount jt 2003). Seega peaks karotinoidsed signaaltunnused olema evolutsioneerunud vastavalt Hamiltoni ja Zuki hüpoteesile parasiitide vahendatud sugulisest valikust. Siiski on uuringuid, kus pole ilmnenud seost karotinoidse ornamentatsiooni ereduse ja parasiteerituse vahel (Weatherhead jt 1993) või on see seos oodatule vastupidine – eredamad isendid on enam parasiteeritud (Seutin 1994). Seega on tarvis rohkem uuringuid erinevates peremees-parasiit süsteemides.

Eredamad karotinoidsed tunnused ei anna märku üksnes parasiidiresistentsusest, vaid peegeldavad ka isendi teisi, küll tihtipeale parasiidiresistentsusega seotud konditsiooni aspekte. Karotinoidsed tunnused signaliseerivad isendi toitumusseisundist (Hill & Montgomerie 1994, Ohlsson jt 2002, Senar jt 2003), immuunsüsteemi efektiivsusest (Blount jt 2003, Faivre jt 2003, McGraw & Ardia 2003, Saks jt 2003a) ja antioksidatiivsest potentsiaalist (Olson ja Owens ülevaade 1998). Seega peaks eredamad karotinoidsed tunnused andma märku nende kandja heast konditsioonist ja nakkusvabast seisundist.

Parasiitide vahendatud sugulise valiku kontekstis on teenimatult vähe tähelepanu pälvinud ainuraksed sooleparasiidid koktsiidid, kes nakatavad peensoole eri osi (Ruff & Fuller 1975, Rose 1979) ja kelle negatiivset mõju peremehe füsioloogiale on täheldatud paljudes katsetes kodulindudega (Rose 1979, Tyczkowski jt 1991, Allen 1992, Conway 1993, McKee & Harrison 1995; Matthews jt 1997, Allen jt 1997a, Goldova jt 2000). Nakkuskoldest tulenevalt võivad koktsiidid pärssida metaboliitide imendumist peensooles ja seeläbi alandada isendi toitumusseisundit. Kuna peensoole ülemine osa on ka karotinooidide imendumispaigaks (Tyczkowski jt 1991, Sironi 1994), võib arvata, et koktsiididega nakatunud lindudel on soolestiku kahjustuste tõttu karotinooidide absorbeerumine häiritud ja seega ka karotinooidsed tunnused nõrgemini välja arenenud kui nakkusvabadel lindudel. Nt Tyczkowski jt (1991) katses ilmnes, et koktsiidinakkuse tagajärjel alaneb kanadel karotinooidide kontsentratsioon jalgu katvas nahas – tekib nn kahvatu linnu sündroom. Paljud katsed kodulindudega on näidanud koktsiididega nakatunud lindude vereplasma karotinooidide taseme olulist alanemist (Allen 1987, 1992, 1996, Ruff & Fuller 1975, Tyczkowski jt 1991, Matthews jt 1997, Zhu jt 2000, Allen & Fetterer 2002b). Seega võiks koktsiidid ideaalselt sobida Hamiltoni ja Zuki parasiitide vahendatud sugulise valiku mudelisse. Ent paraku on enamus koktsiidinakkust käsitlevaid uuringuid tehtud põllumajanduslindudel ja väga vähe on teada koktsiidide mõjust vabalt elavate lindude füsioloogiale ja karotinooidsele sulestikule. On teada vaid kaks uuringut metslindudega (McGraw & Hill 2000a, Brawner jt 2000), kus on ilmnenu värvulistel laialt levinud koktsiidiperekonna *Isoospora* negatiivne mõju kuldsiisikese (*Carduelis tristis*) ja aed-karmiinleevikese (*Carpodacus mexicanus*) karotinooidsele sulestikule. Samas puuduvad siiani andmed selle kohta, kuidas koktsiidinakkus mõjutab metslindude tervislikku seisundit.

Käesoleva töö eesmärk oli eksperimentaalselt tuvastada, kas ja kuidas koktsiid *Isoospora lacazei* mõjutab rohevintidel tervislikke näitajaid ja karotinooidset sulestikku.

Töö hüpoteesid:

- 1) eeldades, et koktsiidinakkus on rohevindile kulukas ja nakatunud isendid peavad enam ressursse kulutama nakkusega toimetulekuks, peegeldavad nakatatud lindude konditsiooninäitajad allasurutud nakkusega lindudest kehvemat tervislikku seisundit
- 2) soolestikukahjustuse tõttu on nakatunud isendid kehvemas toitumusseisundis ja

karotinoidide imendumise häiritusest tulenevalt on nakatunud isenditel tuhmim karotinoidne sulestik.

Hüpoteeside uurimiseks mõõdeti koktsiidiga *Isoospora lacazei* nakatatud 28 isasel rohevindil eri konditsiooninäitajad – peamiselt hematoseroloogilised näitajad – ja sulestiku värvuse parameetrid.

1.4 Töös kasutatud konditsiooninäitajad ja sulestiku värvuse parameetrid

LK – üldine leukotsüütide kontsentratsioon. Leukotsüüdid moodustavad organismi immuunsüsteemi aluse ja nende peamine funktsioon on kaitsta organismi patogeenide eest. Kõrge leukotsüütide kontsentratsioon kaasneb enamasti põletikuliste protsessidega, mis tekivad vastusena mikroobide ja makroparasiitidega nakatumisele (Dein 1986). Enamasti on kõrge leukotsüütide kontsentratsioon põhjustatud kahe arvukaima leukotsüütitüübi, heterofiilide ja lümfotsüütide hulga tõusust.

Heterofiilid on imetajatel esinevate neutrofiilide analoogid lindudel. Tegu on mittespetsiifiliste fagotsüteerivate rakkudega, mis sisenevad kudedesse seal toimuvate põletikuliste protsesside käigus ja võivad immuunvastuse kestel kahjustada ka peremehe enda kudesid (Parslow 1994).

Lümfotsüüdid on erinevalt heterofiilidest kõrge spetsiifilisusega immuunrakud, mis enamasti ei põhjusta peremehele olulisi kahjustusi. Lümfotsüüdid jagunevad T- ja B-lümfotsüütideks. T-lümfotsüüdid (mille hulka kuulub enamus veres tsirkuleerivaid lümfotsüüte) hoolitsevad immuunvastuse regulatsiooni ja võõr-antigeenide hävitamise eest ning tagavad rakulise immuunsuse. B-lümfotsüüdid tagavad antikehadel põhineva ehk humoraalse immuunvastuse (Parslow 1994). Vähenenud lümfotsüütide kontsentratsioon veres on tõlgendatav kui märk immunosupressioonist, millega võib kaasneda vastuvõtlikkuse suurenemine infektsioonidele (Siegel 1985).

H/L on heterofiilide ja lümfotsüütide suhtelist arvukust iseloomustav indeks. Selle kõrge väärtus kaasneb tavaliselt stressiseisundiga (Gross & Siegel 1983; Maxwell 1993; Ots & Hõrak 1996).

Üldvalk – seerumivalkude üldkontsentratsioon. Seerumivalgu kontsentratsiooni langus kaasneb peaaegu kõigi haigustega, kuid on eriti iseloomulik alatoitluse ja mitmete nakkuste sümptom, olles enamasti põhjustatud albumiini taseme langusest vereseerumis (Kawai 1973; Coles 1997). **Albumiin** on suurima

konsentratsiooniga seerumi valk, osaleb valkude sünteesis, on mitmete metaboliitide kandja ja toimib energiaallikana glükogeeni ja lipiidide vaeguse korral. Nii suhteline kui absoluutne albumiini kontsentratsiooni vähenemine seerumis on mistahes haigusstaadiumi tavaline sümptom. Albumiini vaegus tekib enamasti nakkuse akuutses faasis alatoitumuse, maksahäirete ja põletikuliste protsesside tagajärjel. Albumiini taseme langusega kaasneb põletikuliste protsesside puhul sageli ka **globuliinide** kontsentratsiooni tõus, mis on tingitud peamiselt β - ja γ -globuliini kontsentratsiooni tõusust. β -globuliinide rühma kuuluvad immuunvastuse akuutse faasi valgud (Coles 1997; Nordling 1998). γ -globuliinide rühma kuulub enamus organismi toodetud antikehi, mis osalevad immuunvastuses algloomade, bakterite või viirustega nakatumisele. Nii akuutsete kui krooniliste infektsioonide ja põletikuliste protsesside korral on haigetele indiviididele iseloomulik kõrgem globuliinide kontsentratsioon vereseerumis ja madalam **albumiinide ja globuliinide suhe (Alb/Glo)** kui tervetel isenditel (Ots jt 2001).

Triglütseriidide tase iseloomustab mõni tund enne proovi võtmist omastatud toidu hulka (Jenni-Eiermann & Jenni 1998). Kõrge triglütseriidide tase seerumis on iseloomulik staadiumile, kus toidust omastatud rasv transportitakse säilituskoesse.

Keha mass on üks enim kasutatavaid isendi konditsiooni hindamise indekseid, mis iseloomustab isendi toitumusseisundit (Brown 1996).

Plasma karotinoidid on olulised antioksidandid ja seega mängivad olulist osa mittespetsiifilises immuunvastuses.

Vitamiin E (α -tokoferool) on rasvlahustuv antioksidant, suurendab vitamiin A mõju. Soodustab toitainete transporti (Rock 1996).

Vitamiin A (retinool) toimib antioksidandina, rasvlahustuv, eelühendiks taimedes karotinoidid (β -karoteen), stimuleerib valkude sünteesi (Rock 1996).

Värvipuhutus (*chroma*) – iseloomustab värvi küllastatust (Endler 1990).

Toon (*hue*) – valguse peegeldumisspektri kuju korrelaat, mida mõõdetakse kraadides värvikettal (Endler 1990).

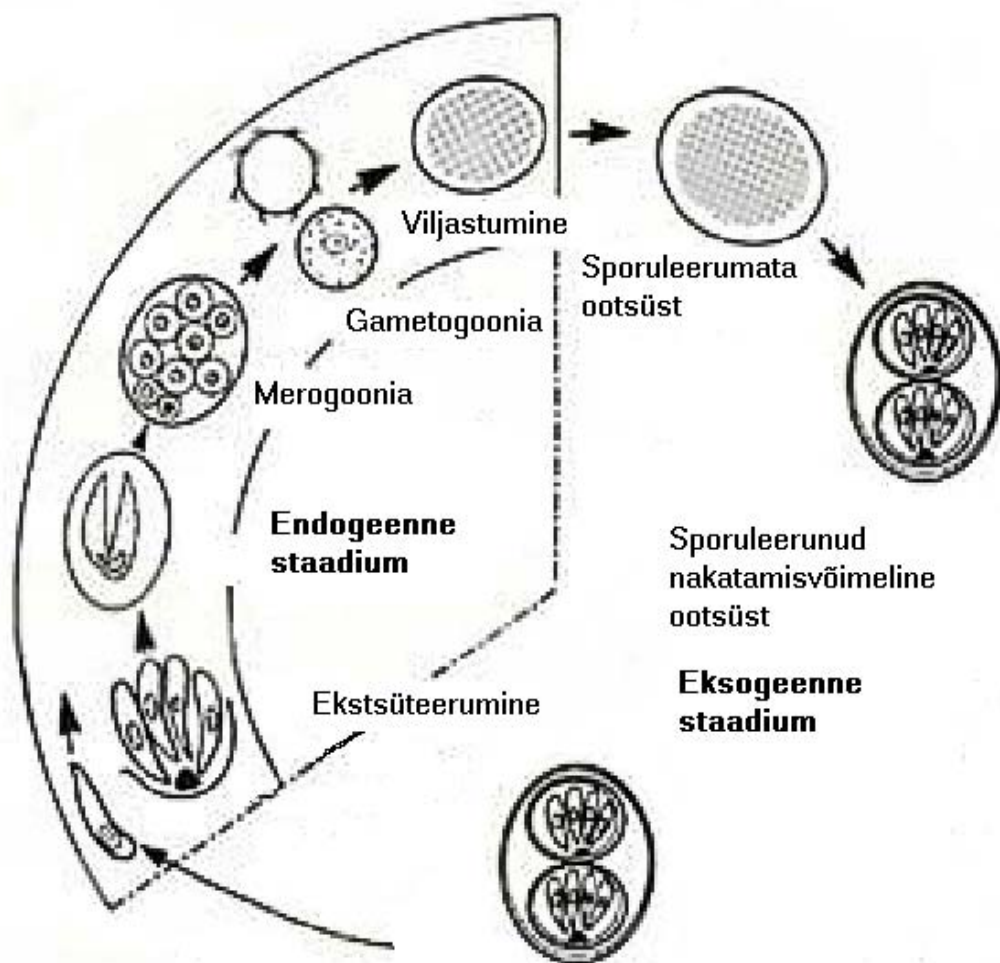
2. Materjal ja metoodika

2.1. Uurimisobjektid

Rohevindid (*Carduelis chloris*) on keskmise suurusega (ca 28–30 g.) taimtoidualised värvuliste seltsi (*Passeriformes*) kuuluvad linnud, kes on laialt levinud kogu Euroopas, Loode-Aafrikas ja Edela-Aasias. Elupaigana eelistavad kultuurmaastikke ja põõsastikke. Pesitsemine kestab tavaliselt aprillist juulini ja munetakse kaks kurna, millele järgneb sulgimisperiood. Pehmetel talvedel paigalind, elutingimuste halvenedes võtavad aga rohevindid ette ka mõõdukaid rändeid (Kumari 1954). Rohevindid on hästi vangistust taluvad linnud ja neil esinevad ka karotinoididel baseeruvad signaaltunnused (Lindström & Lundström 2000). Rohevindid on niisuguseks tööks sobiv uurimisobjekt, kuna neid on juba kasutatud nii sootunnuste ja konditsiooni (Lindström & Lundström 2000) kui ka peremehe ja parasiidi vaheliste seoste uurimisel (Lindström 2000).

Koktsiidid on eosloomade (*Sporozoa*) klassi kuuluvad parasiitsed ainuraksed, kes kuuluvad alamklassi *Coccidia* ja alamseltsi *Eimeria*, kuhu kuuluvad peamised koktsidioositekitajad perekonnad *Eimeria*, *Isospora* jt. Perekonna *Isospora* liigid esinevad peamiselt värvulistel, nakatavad peensoole esimest osa (duodenumit ja jejunumit), põhjustades kõhulahtisust ja soolestiku absorbeerimisvõime langust. Teadaolevalt on *Isospora lacazei* traditsiooniliseks peremeheks rohevint (Levine 1982).

Koktsiidi elutsükel (Joonis 1) seisneb mittesugulise ehk vegetatiivse ja sugulise põlvkonna vaheldumises. Soolestiku epiteelirakku tunginud sporosoid kasvab ja annab hulgijagunemise teel alguse suurele hulgale pisirakkudele – merosoididele. Pärast peremehe raku jagunemist vabanevad merosoidid ja tungivad soolte limaskestas uutesse rakkudesse, kes eelpool kirjeldatud arengutsükel kordub. Vegetatiivne tsükel võib kesta mõned generatsioonid, kuid lõpuks, enamasti mingi stiimuli mõjul (nt peremehe antikehade moodustumine) diferentseeruvad mõned merosoidid isas- ja emasvormideks, mis alustavad arengu sugulist tsüklit. Merosoidide sugulised vormid tungivad rakku, kus nad ümbritsetakse kestaga, mille järel nad diferentseeruvad mikro- ja makrogametotsüütideks. Varsti pärast nende rakkude tekkimist toimub viljastumine. Mikrogameet tungib makrogameeti ja liitub sellega, misjärel moodustub vastupidava kestaga ootsüst. Ootsüstid kanduvad koos väljaheidetega väliskeskkonda,



Joonis 1. Koksiidi elutsükkel (Smyth 1994 järgi).

kus toimub nende sporuleerumine. Ootsüsti sisaldis annab kas ühe- või kahekordse jagunemise teel alguse kahele või neljale sporoblastile. Iga sporoblast moodustab enda ümber kesta ja muutub sporotsüstiks, mis on taas nakatamisvõimeline (Smyth 1994).

2.2 Üldandmed

Töös kasutatud andmed koguti Tartus 3. jaanuarist kuni 6. märtsini 2002. Katses osalenud linnud püüti Vaibla linnujaamast (58° 24' N; 26° 3' E) ajavahemikus 2 – 20 oktoober 2001. Pärast transporti Tartusse paigutati linnud individuaalsetesse puuridesse (27×51×55 cm). Linde toideti katsete toimumise ajal *ad libitum* päevalilleseemnetega. Linde joodeti kraaniveega ning vett vahetati iga päev.

Katseseeria ajal hoiti linde looduslikes valgustingimustes. Lisaks anti lindudele ühe nädala kestel (33. – 40. katsepäev) liiva ja purustatud munakoorte segu.

Uuring toimus Eesti Keskkonnaministeeriumi loal ja linnud vabastati pärast katset nende looduslikku keskkonda.

2.3 Katse protokoll

Esimese katsepäeva hommikul võeti kõigilt isenditelt vere- ja roojaproovid, et määrata katse-eelseid konditsiooninäitajate väärtusi ja koktsiidinakkuse intensiivsust. Kahe nädala pärast said kõik isendid 5-päevase (päevad 15–19) Vetacox PLV (Sanofy-Synthelabo Inc., Paris, France) ravikuuri. Vetacox lisati joogivette vahekorras 1g Vetacoxi lahustatuna 2 L vees. Ravikuuri teise päeva õhtul (päev 16) koguti suleproovid (vabas looduses kasvanud suled) rinnalt ja sabast. 21. päeva hommikul, kui kõigil isenditel oli nakkus kadunud, võeti teist korda vereproovid. Hommikused proovid peegeldavad öist näljaseisundit. Nädal hiljem (päev 28) nakatati pooled linnud (14 isendit) oraalset 2000 *Isoospora lacazei* sporuleerunud ootsüstiga, mis olid lahustatud 120 µL vees. Teine pool linde sai 5-päevase ravikuuri (28–32 päev) Vetacoxiga.

Seejärel jätkasid “ravitud” linnud 5-päevast ravikuuri Vetacoxiga nii, et iga kuuri vahe oli 2 päeva kuni päevani 52 (ravi anti päevadel 35–39, 42–46 ja 49–52). Kolmanda korra vereproovid võeti 8 päeva pärast eksperimentaalset nakatamist/ravikuuri (päev 35). Laboris kasvanud suled ja viimased vereproovid võeti siis, kui asendussuled olid täis kasvanud (63. päeval). Roojaproovid isosporoosse nakkuse intensiivsuse määramiseks võeti 3 päeval vereproovi võtmise ümber (päevad

0–2, 20–22, 34–36, 62–64), välja arvatud manipulatsioonijärgselt, kui nakatatud rühmal võeti proovid 10 järjestikusel päeval, et selgitada nakkuse tõusu dünaamikat.

2.4 Analüüsid

Leukotsüütsed parameetrid määrati vereproovidest, mis võeti reie- või tiivaveenist (Bennet 1970) 20-mikroliitristesse kapillaaridesse. Igast proovist tehti kaks äigepreparaati, mis kuivatati õhu käes, fikseeriti metanooliga ja värviti azuureosiiniga. Leukotsüütide tüübid määrati lugedes 100 valget vererakku 1000-kordse suurendusega õliimmersioonis. Okulaaride kordus oli kümme. Leukotsüütide üldkontsentratsioon (LK) saamiseks loendati valgelibled keskmiselt 10 000 erütrotsüüdi kohta. Eri leukotsüütide kontsentratsiooni saamiseks korrutati nende protsent (loetud 100 leukotsüüdist) LK-ga.

Valgu sisalduse ja suhtarvude määramiseks seerumis kasutati standardset agaroosiigeeli elektroforeesi meetodi süsteemi REP System (Helena Laboratories, Beaumont, Texas; Ots jt 1998). Kuna prealbumiini fraktsiooni eristamine albumiinist ei olnud alati võimalik, siis on need fraktsioonid kokku liidetud ja käsitletud üldise albumiini kontsentratsioonina.

Vitamiin A, E ja plasma karotinoidide kontsentratsiooni määramiseks sadestati nad eelnevalt etanooliga ja seejärel eraldati plasmast heksaaniga. Edasi kasutati HPLC süsteemi (Shimadzu Liquid Chromatograph, LC-10AD, Japan Spectroscopic Co, JASCO Intelligent Spectrofluorometer 821-FP) metanooli ja vee mobiilset faasi (97:3, v/v). Vitamiin A ja E määramiseks kasutati mobiilset faasi voolukiirusel 1.05 ml/min. Kontsentratsioonide määramiseks kasutati vitamiin A korral kiirgust 330–480 nm ja vitamiin E korral 295–330 nm ja mõõdeti saadud tulemusi nende standardlahuste väärtustega (lähemalt Surai ja Speake 1998). Karotinoidide määramiseks kasutati sama HPLC süsteemi mobiilset faasi voolukiirusel 1.5 ml/min. Karotinoidide kontsentratsiooni mõõtmiseks määrati 445 nm juures absorbeeruvate karotinoidide hulk ja võrreldi saadud tulemusi standardse luteiini vastava väärtusega (Surai ja Speake 1998).

Värviparameetrite määramiseks koguti igalt isendilt 6. sabasulg paremalt poolt. Kolmelt isendilt, kel parempoolselt sabasulge polnud, võeti vasakult 6. sabasulg. Rinnasulgede värvi määrati vähemalt kahe linnu kõhult ning püües võimalikult tõmmatud sule põhjal. Kogutud suled säilitati plastikkottides toatemperatuuril ja

pimedas. Värvust mõõdeti ca 1 mm² suurusel alal spektrofotomeetriga (Ocean Optics S2000, Dunedin, FL, USA). Suled asetati mustale aluspõhjale ja neile juhiti halogeenlambist (Ocean Optics LS-1) standardne valguskiir 90° nurga all, peegelduvaid kiiri püüdev kaabel asetati 45° alla ja ühendati spektrofotomeetriga. Spektromeetrist saadud andmed digitaliseeriti DAC Card 700 abil ning sisestati arvutisse vastava tarkvara abil (OOIBase). Iga mõõtmise andis vahemikus 400–800 nm ühe lugemi iga nanomeetri kohta. Nende mõõtmiste käigus saadi värvitooni (*hue*) ja -puhtuse (*chroma*) väärtused. Toon on peegeldumisspektri kuju korrelaat, mida mõõdetakse kraadides. Värvipuhitus näitab värvi küllastatust. Värvipuhituse ja tooni väärtused arvutati järgmiselt:

$$\text{värvipuhitus} = \arctan \left\{ \frac{[(Q_y - Q_b)/Q_t]}{[(Q_r - Q_g)/Q_t]} \right\}$$

$$\text{toon} = \sqrt{(Q_r - Q_g)^2 + (Q_y - Q_b)^2}$$

Mõlemas valemis tähendab Q_r spektri punase värvi alalt tagasi peegeldunud valguse hulka (vahemikus 625–700 nm), Q_g spektri rohelse värvi alalt tagasi peegeldunud valguse hulka (vahemikus 475–555 nm), Q_y spektri kollaselt alalt tagasi peegeldunud valguse hulka (vahemikus 555–625 nm), Q_b spektri sinise ala peegeldus (vahemikus 400–475 nm) ja Q_t (eredus) on kogu nähtava spektriosa (400 nm – 700 nm) mõõtmiste summa ehk ülderedus (lähemalt Endler 1990).

Sulestiku karotinoidide sisalduse määramiseks lõigati ära sulgede kollaselt pigmenteerunud osad ja kaaluti 0,01 mg täpsusega elektroonilisel kaalul (Mettler Toledo AG245, Greifensee, Switzerland). Karotinoidid ekstraheeriti sulgedest happelise püridiiniga (McGraw jt 2002). Sule osad pandi 9 mL katsutitesse, mis sisaldasid 3 mL lämmastikuga kaetud happelist püridiini ja mida oli hoitud 4h 95°C juures. Pärast segu jahtumist toatemperatuurini lisati katsutisse 3 mL destilleeritud vett ja segati. Seejärel lisati 3 mL heksaani ja loksutati 2 min. Järgnevalt tsentrifugeeriti saadud lahust 10 min (2500 pööret minutis). Heksaani faasi supernatant, mis sisaldas karotinoide, pani uude katsutisse ja kuivatati lämmastiku voolu all. Saadud jääk lahustati 200 µl HPLC (High Performance Liquid Chromatography; kõrge lahutusvõimega vedelkromatograafia) mobiilsesse faasi (46 : 46 : 8, atsetoonitrit : metanool : kloroform, v/v/v). 50 µl igat proovi süstiti WatersTM 717plus Autosampler HPLC-sse (Millipore Corp., Milford, MA, USA), mis oli sobitatud süsiniksilindrisse. Silindrit hoiti konstantsel temperatuuril 26°C juures. Konstantse vooluse ulatuse

analüüsiks (0.6 mL min^{-1} , silindri surve 10000 psi) kasutati mobiilse faasi isokraatset süsteemi (HP 1050 seeria isokraatne pump) 22 min jooksul. Pigmenti määramiseks võrreldi tema väljapesemisaega autentse karotinoidide vastavate näidistega. Iga proovi üldine karotinoidide kontsentratsioon ($\mu\text{g g}^{-1}$) määrati absorbeeruva spektrofotomeetriga (Bausch and Lomb Spectronic 1001, Rochester, NY, USA; Saks jt 2003b).

Koktsiidiliigi määramiseks kasutati natiivsete ootsüstide preparaatide valgusmikroskopeerimist faaskontrastiga. Ootsüste hoiti eelnevalt 140 tundi 2 %-lises kaaliumdikromaadi lahuses. Mikroskopeerimiskeskkonnaks oli NaCl lahus, glütseriin ja immersiooniõli. Ootsüste fikseeriti Shaudini lahusega ja vaadati suurendustega 40 x 15 ja 90 x 10 (õliimmersioon). Määramine toimus 10 vaateväljas esinevate ootsüstide põhjal ja igas vaateväljas määrati 3–10 ootsüsti (Scholtyseck 1979).

Nakatamiseks koguti 8-lt kõige kõrgema nakkusega isendilt 5 päeva kestel rooja. Iga päev segati roe kohe pärast kogumist veega (1g rooja kohta 2 ml vett), lasti seista tund aega toatemperatuuril, et ootsüstid roojast välja tuleksid. Seejärel kurnati vedelik tsentrifuugikatsutisse, segati 10 ml veega ja tsentrifuugiti 7 minutit (2500 pööret minutis). Supernatant võeti pealt ära, klaasi põhja jäeti 1 ml vedelikku, millele lisati taas 10 ml vett ja tsentrifuugiti taas 7 minutit (2500 pööret minutis). Sama protseduuri korrati veel korra – kokku 3 korda. Pärast kolmandat tsentrifuugimist võeti taas supernatant pealt ära, allesjäänud 1 ml vedelikku segati 45%-lise lauasuuhkrulahusega ja tsentrifuugiti 15 minutit (3000 pööret minutis). Seejärel koguti pindkihist ca 0.5 ml vedelikku, milles olid pinnale tõusnud ootsüstid. Saadud vedelik segati 10 ml veega ja pesti tsentrifuugis 10 minutit (1500 pööret minutis). Supernatant võeti pealt ära, klaasi jäänud 1 ml vedelikku segati taas 10 ml veega ja protseduuri korrati veel 4 korda, st kokku 5 korda. Puhtakpestud ootsüstid pandi 2%-lisse kaaliumdikromaadi ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) lahusesse, mis oli lahjendatud veega 1:1 (10 ml vett ja 10 ml $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ lahust). Saadud lahus jäeti seisma toatemperatuurile, lahust aereeriti iga päev. Ootsüstid sporuleerusid 5. päevaks. Nakatamise jaoks pesti sporuleerunud ootsüstid $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ lahusest välja – 1ml lahuse kohta 10 ml vett, tsentrifuugiti 10 minutit (2500 pööret minutis), protseduuri korrati kokku 5 korda, kuni $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ oli täielikult välja pestud. Saadud lahust kontsentreeriti tsentrifuugimise teel nii, et nakatamislahust oli lõpuks 1760 ml (millest 80 μl arvestatud loomuliku kaona; 14-le

isendile ette nähtud kogus oli 1680 µl). Iga isend sai noka kaudu 120 µl vedelikku, milles oli 2000 ootsüsti.

Roojaproovide loendamine. Kogutud roojaproovid kaaluti, segati veega (1 ml vett igale roojaproovile) ja jäeti pooleks tunniks toatemperatuuril seisma. Siis kurnati ja tsentrifuugiti saadud vedelikku 7 minutit (1500 pööret minutis). Seejärel võeti supernatant pealt ära ja allesjäänud 0.5 ml vedelik segati 0.2 ml küllastunud NaCl lahusega. Ootsüste loendati Gorjajevi kambris, iga proovi vaadati kahes kambripooles eraldi ja tulemused keskmistati. Seejärel arvutati välja ootsüstide arv 1g rooja kohta.

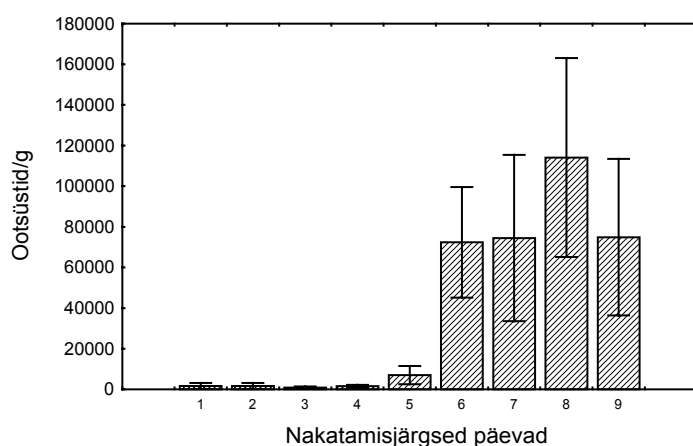
Statistiliste analüüside tegemiseks kasutasin statistikapaketti *STATISTICA for Windows '99 edition*. Manipulatsiooni mõju kindlakstegemiseks rohevindi konditsiooninäitajatele katse vältel kasutati korduvmõõtmistega dispersioonanalüüsi (repeated measures ANOVA). III katsejärgul mõõdetud konditsiooninäitajate keskmiste võrdluseks kasutati ANOVA paariviisiliste kontrastide võrdlust.

3. Tulemused

3.1. Manipulatsioonide mõju nakkusele

Enne katset (I katsejärg) oli 89% lindudest nakatunud. Ravi tulemusena kadus nakkus kõigil isenditel 6. päeval ravi algusest (II katsejärg).

Pärast nakatamist hakkas ootsüstide hulk roojas tõusma 6. päeval (Joonis 1), saavutades tipu 8. päeval pärast nakatamist (III katsejärg), mil ootsüstide erinevus kahe grupi vahel oli 263-kordne (Joonis 2A).



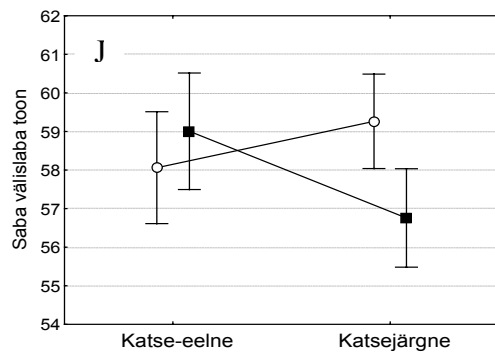
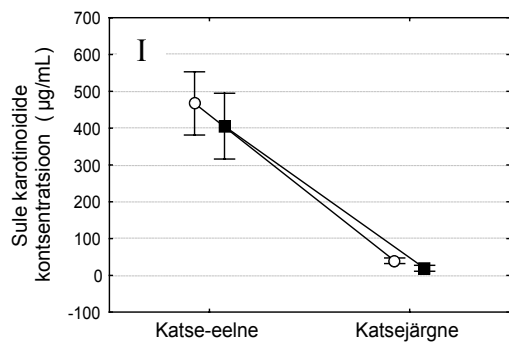
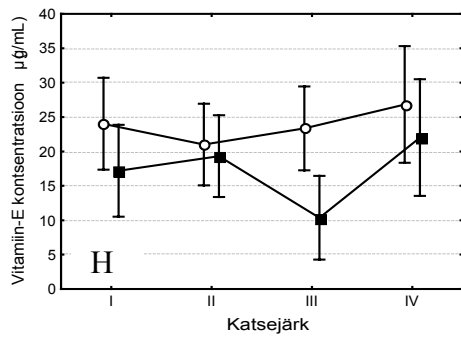
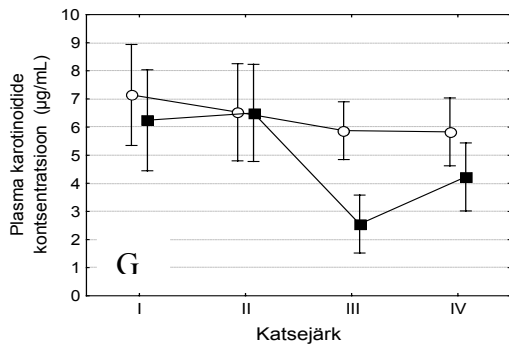
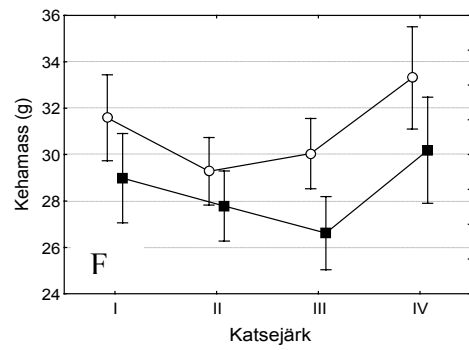
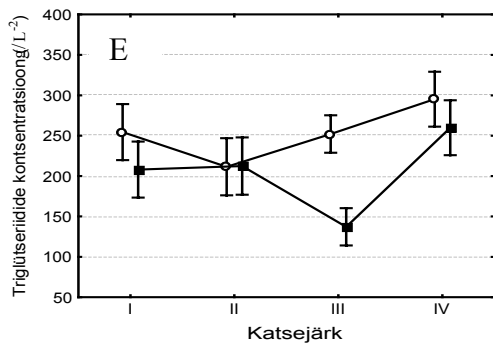
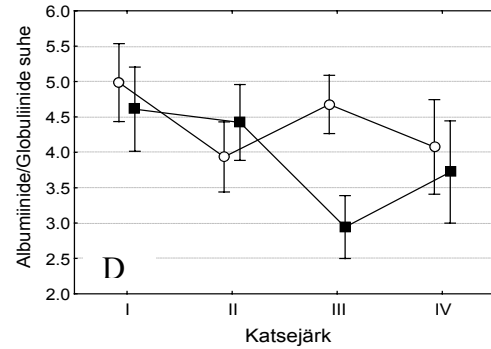
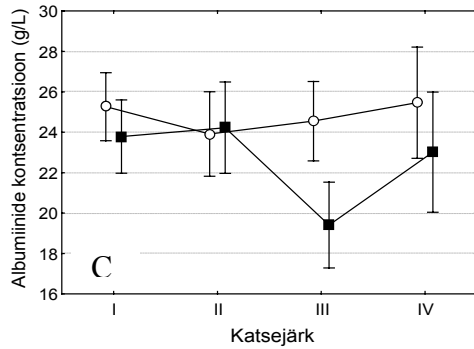
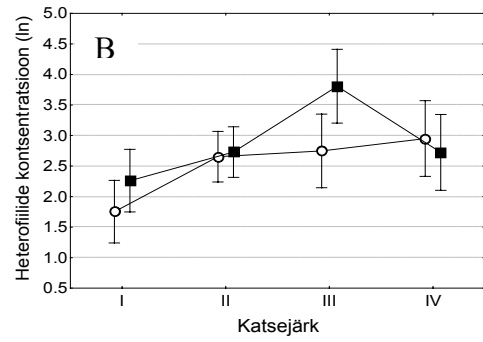
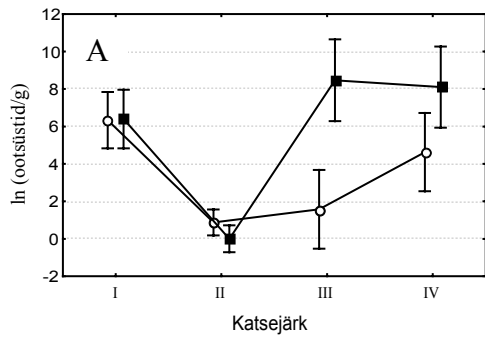
Joonis 1. Ootsüstide arvu (keskmised ± SE) tõus pärast nakatamist.

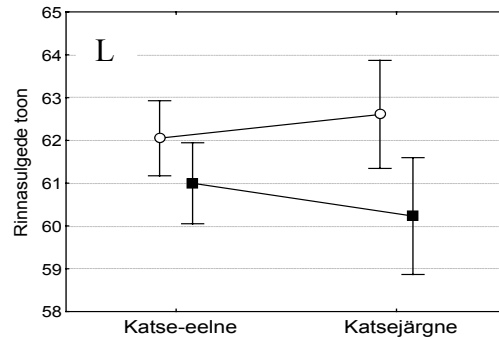
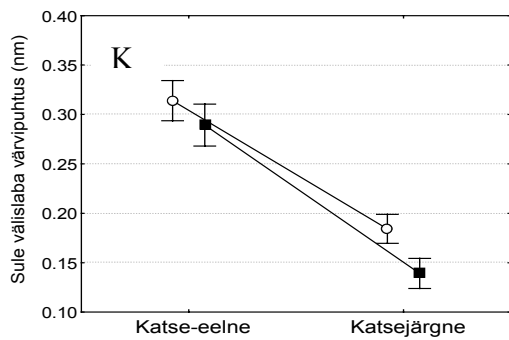
3.2. Manipulatsiooni mõju konditsiooninäitajatele

Leukotsüütsetest immuunparameetritest oli leukotsüütide üldhulk nakatatud isenditel läbi katse kõrgem, mis oli tingitud peamiselt heterofiilide suuremast kontsentratsioonist nakatatutel (Tabel 1). Nakatunud isenditel oli heterofiilide kontsentratsioon katse III järgus 36% kõrgem kui ravitud isenditel (Joonis 2B; Tabel 2). Lümfotsüütide kontsentratsioonis ja heterofiilide ja lümfotsüütide suhtarvus gruppide vahel olulist erinevust polnud. Valgulistest parameetritest oli albumiini üldhulk katse III järgus nakatatutel 23.5% madalam kui ravitutel (Joonis 2C, Tabel 2), mis ilmselt tingis ka madalama albumiinide ja globuliinide suhtarvu nakatatutel katse III järgus (Joonis 2D; Tabel 2). Üldvalgu ja globuliinide kontsentratsioonis gruppide vahel olulist erinevust ei olnud. Oluline erinevus kahe grupi vahel oli triglütseriidide kontsentratsioonis, mis oli katse III järgus ravitutel 45.7 % kõrgem kui nakatatutel (Joonis 2E; Tabel 2). Kehamassile manipulatsioon olulist mõju ei avaldanud, ent katse III järgu kontrastide võrdlusel ilmnes, et nakatatud isenditel on kehamass oluliselt väiksem kui ravitutel (Joonis 2F, Tabel 2). Samuti oli plasmakarotinoide tase III katsejärgus ravi saanud grupil 56.6% kõrgem kui nakatatutel (Joonis 2G, Tabel 2). Manipulatsiooni mõju vitamiin E kontsentratsioonile oluline ei olnud, küll aga oli III katsejärgus nakatatutel vitamiin E kontsentratsioon 55.6% madalam kui ravitud isenditel (Joonis 2H, Tabel 2). Vitamiin A kontsentratsiooni osas gruppide vahel olulisi erinevusi ei letud.

3.3. Manipulatsiooni mõju sulestiku värvusele

Looduses kasvanud suled sisaldasid oluliselt rohkem karotinoide kui vangistuses kasvanud suled mõlemal grupil, erinevus looduses ja vangistuses kasvanud sulgede karotinoide sisalduse vahel oli 93.2% (Joonis 1I, Tabel 2). Laboris kasvanud sule karotinoide kontsentratsioon oli katse lõpus nakatatutel 51.9% madalam kui ravitutel (Tabel 2). Saba siselaba toon ja värvi puhtus gruppide vahel ei erinenunud (Tabel 1). Saba välislaba tooni ja värvi puhtuse väärtused olid kõrgemad ravitutel (Joonis 1J, K, Tabel 1), samuti oli rinnasulgede tooni väärtus kõrgem ravitud isenditel (Joonis 1L, Tabel 1).





Joonis 2. Manipulatsiooni (valge ring – ravitud, must ruut – nakatatud) mõju lindude konditsiooninäitajatele ja sulestiku parameetritele katse vältel (I – katse-eelne periood, II – ravi, III – manipulatsioon, IV – katsejärgne periood). Statistikud esitatud tabelis 1.

Tabel 1. Nakatamise mõju lindude konditsiooninäitajatele ja sulestiku parameetritele katse vältel (korduvmõõtmistega dispersioonanalüüs).

Tunnus	Vastuse tüüp	F	P	N
Parasiitide hulk	manipulatsioon	11.95	0.002	Ravi 13
	aeg	25.38	<0.00001	Nak. 14
	aeg × manip.	10.03	0.00001	
Kehamass	manipulatsioon	5.73	0.025	Ravi 14
	aeg	24.18	<0.00001	Nak. 13
	aeg × manip.	1.69	0.19	
LK	manipulatsioon	0.52	0.48	Ravi 8
	aeg	38.66	<0.00001	Nak. 8
	aeg × manip.	4.30	0.0099	
Heterofiilide kontsentratsioon	manipulatsioon	1.78	0.20	Ravi 8
	aeg	14.37	<0.00001	Nak. 8
	aeg × manip.	4.02	0.013	
Lümfotsüütide kontsentratsioon	manipulatsioon	0.70	0.42	Ravi 8
	aeg	14.38	0.0009	Nak. 8
	aeg × manip.	2.61	0.12	
H/L	manipulatsioon	0.78	0.39	Ravi 8
	aeg	0.23	0.87	Nak. 8
	aeg × manip.	0.66	0.58	
Valgu üldkontsentratsioon	manipulatsioon	2.12	0.16	Ravi 14
	aeg	2.26	0.089	Nak. 13
	aeg × manip.	1.03	0.38	

Albumiini kontsentratsioon	manipulatsioon	3.60	0.070	Ravi 14
	aeg	3.92	0.012	Nak. 12
	aeg × manip.	3.75	0.015	
Globuliini kontsentratsioon	manipulatsioon	0.42	0.52	Ravi 14
	aeg	2.91	0.040	Nak. 12
	aeg × manip.	1.69	0.18	
Alb/glo	manipulatsioon	3.55	0.072	Ravi 14
	aeg	7.55	0.0002	Nak. 12
	aeg × manip.	7.997	0.0001	
Triglütseriidide kontsentratsioon	manipulatsioon	6.16	0.020	Ravi 13
	aeg	38.61	<0.00001	Nak. 13
	aeg × manip.	17.65	<0.00001	
Vitamiin E kontsentratsioon	manipulatsioon	3.18	0.096	Ravi 8
	aeg	4.18	0.011	Nak. 8
	aeg × manip.	2.48	0.074	
Vitamiin A kontsentratsioon	manipulatsioon	0.26	0.61	Ravi 8
	aeg	1.69	0.20	Nak. 8
	aeg × manip.	0.49	0.62	
Plasma karotinoidide kontsentratsioon	manipulatsioon	2.84	0.11	Ravi 8
	aeg	21.73	<0.00001	Nak. 8
	aeg × manip.	7.44	0.0004	
Sulestiku karotinoidide kontsentratsioon	manipulatsioon	1.88	0.18	Ravi 13
	aeg	183.84	<0.00001	Nak. 12
	aeg × manip.	0.48	0.49	
Siselaba toon	manipulatsioon	2.03	0.16	Ravi 13
	aeg	44.56	<0.00001	Nak. 11
	aeg × manip.	1.32	0.26	
Siselaba krooma	manipulatsioon	1.87	0.18	Ravi 13
	aeg	107.22	<0.00001	Nak. 11
	aeg × manip.	0.75	0.39	
Välislaba toon	manipulatsioon	1.45	0.24	Ravi 13
	aeg	0.60	0.44	Nak. 12
	aeg × manip.	6.49	0.018	

Tunnus	Vastuse tüüp	F	P	N
Välislaba krooma	manipulatsioon	23.25	0.00007	Ravi 13
	aeg	194.61	<0.00001	Nak. 12
	aeg × manip.	1.03	0.32	
Rinnasulgede toon	manipulatsioon	6.63	0.017	Ravi 14
	aeg	0.07	0.79	Nak. 12
	aeg × manip.	2.77	0.11	

Tabel 2. Konditsiooniindeksite võrdlus nakatatud ja ravitud lindudel III katsejärgus ja värvuse võrdlus katse lõpus.

Tunnus	DF	F	P
Parasiitide hulk	1;25	21.92	0.00009
WBC	1;14	4.29	0.057
Heterofiilide kontsentratsioon	1;14	7.10	0.019
Lümfotsüütide kontsentratsioon	1;14	2.16	0.16
Heterofiilide/lümfotsüütide suhe	1;14	1.41	0.25
Üldvalgu kontsentratsioon	1;25	3.78	0.063
Albumiini kontsentratsioon	1;24	13.48	0.001
Globuliini kontsentratsioon	1;24	3.62	0.069
Albumiinide/globuliinide suhe	1;24	34.98	<0.00001
Triglütseriidide kontsentratsioon	1;24	52.23	<0.00001
Kehamass	1;25	10.42	0.004
Vitamiin E kontsentratsioon	1;14	10.48	0.006
Vitamiin A kontsentratsioon	1;14	0.67	0.42
Plasma karotinoidide kontsentratsioon	1;14	23.99	0.0002
Sulestiku karotinoidide kontsentratsioon	1;23	14.44	0.0009
Saba siselaba toon	1;22	1.88	0.18
Saba siselaba puhtus	1;22	3.73	0.067
Saba välislaba toon	1;23	8.59	0.008
Saba välislaba puhtus	1;23	19.48	0.0002
Rinnasulgede toon	1;24	6.95	0.014

4. Arutelu

4.1 Manipulatsiooni mõju nakkusele

Perekond *Isospora* liigid on värvulistel laialt levinud ja tavalised sooleparasiidid (Cooper jt 1989; Giacomo jt 1997; Dolnik 2003; Brawner jt 2000; McGraw & Hill 2000a; McQuiston 2000, Duckworth jt 2001, De Freitas jt 2003). Ka katse-eelne kõrge nakkusprotsent (89% isenditest nakatunud) laseb arvata, et *Isospora lacazei* on rohevintidel sagedasti esinev endoparasiit.

Ravimina kasutati katses sulfoonamiididel baseeruvat koktsidiostaatikumi Vetacox, mis peatab koktsiidi arengutsükli soolestikus. Sulfoonamiidide manustamist sulgimise ajal on mõned autorid ohtlikuks pidanud, kuna see võivad tekitada maksakahjustusi ja pärssida sulgede normaalset arengut (Kaleta & Bolte 2000), ent see tundub väheusutav, kuna sulfoonamiidid on koktsidioosi ravimina põllumajanduslindudel laialdaselt tunnustatud ja kasutamist leidnud (Reck & McQuiston 1994, Greif jt 2001 ülevaade). Samuti on tehtud katseid värvulistega (Brawner jt 2000, Duckworth jt 2001), kus on sulfoonamiide (sulfadimetoksiini) edukalt kasutatud, sh ka sulgivatel lindudel (McGraw ja Hill 2000a).

Pärast nakatamist hakkas ootsüstide hulk roojas oluliselt tõusma 6. päeval, saavutades tipu 8. päeval. *Isospora* endogeense tsükli eri staadiumite pikkuse kohta informatsiooni paraku pole. Perekonnal *Eimeria* on prepatentperiood 5–6 päeva (Norton 1976, Allen 1987, Goldova jt 2000) ja maksimaalne ootsüstide tootmine 6–9 päeval pärast nakatamist (Allen & Fetterer 2002a). Nt Rose'i (1979) katses ilmnes, et *E. maxima*'l tipnes ootsüstide produktsioon 7. päeval pärast nakatamist, Goldova jt (2000) tehtud uuring *E. colchici*'ga näitas, et enim ootsüste oli roojas 8–9 päeval pärast nakatamist. Siinses katses saadud andmed viitavad sellele, et *Isospora lacazei* prepatentperiood on samuti 5 päeva ja ootsüstide maksimaalne produktsioon 8. päeval pärast nakatamist. Seega võib oletada, et *Isospora* ja *Eimeria* endogeense tsükli eri staadiumite pikkus ei erine oluliselt üksteisest. Ehkki Dolnik (2003) täheldas oma katses, et *Isospora sylvianthina* alustas sugulist tsükli juba 3. päeval pärast nakatamist, ent miks nii vara, sellele Dolnik seletust anda ei osanud.

4.2. Manipulatsiooni mõju konditsiooninäitajatele

Isendi toitumusseisundit iseloomustavad konditsiooninäitajad – kehamass, albumiinide ja triglütseriidide kontsentratsioon – olid III katsejärgus (nakkuse tippfaas) kõrgemad ravitud isenditel. Kehamassi langus on üks peamisi koktsiidinakkuse tagajärgi ja seda on täheldatud paljudes katsetes kanadega (Allen 1992; McKee & Harrison 1995; Matthews jt 1997; Allen jt 1997b, Allen & Danforth 1998, Zhu jt 2000, Allen & Fetterer 2002b) ning samuti vaatluses värvulistega (Cooper 1989).

Nakatanud isendite toitumusseisundi halvenemisel on mitmeid füsioloogilisi põhjusi. Soolestiku limaskihi kahjustuste tagajärjel on tugevasti häiritud toidu absorbeerumine, kuna väheneb limaskihi läbilaskvus ja absorbeerivate rakkude ensümaatilise aktiivsuse (Hoerr 1998, Hoste 2001). Nakkuse intensiivistudes soolestiku seinad paksenevad, võib esineda veritsust. Peensooles on enamus kahjustusi seotud hattude abrasiooniga, millega tihtipeale kaasneb koevohang Lieberkühni krüptis (Hoerr 1998, Giacomo jt 1997). Nt Allen (1987) täheldas katses kanadega, et *Eimeria acervulina* nakkus duodenumis põhjustas krüptide pikenemist ja hattude lamenumist. Lisaks on nakkuse tagajärjel häiritud mao müoelektriline funktsioneerimine ning lüheneb aeg, mille jooksul toidumass läbib seedekulgla, mistõttu on häiritud toidumassi kokkupuutumine luumeni sisaldiste ja absorbeeriva limaskihiga (Turk 1974, Hoerr 1998, Hoste 2001). Tagajärjeks on enamasti suurel hulgal lima ja vooluse eritus ja kõhulahtisus. Vedelikukaotus on koktsidioosi tavalisemaid sümptomeid (Allen jt 1997b, McDougald 1998, McDonald 2000), eriti kui haiguskolle on peensoole ülemises osas (Hoste 2001). Maksimaalne limaskesta häiritus on ootsüstide tootmise ajal, mis perekond *Eimeria* puhul on 5.–9. päeval pärast nakatamist (Allen & Fetterer 2002a). Käesolevas töös ilmnes, et ka *Isospora lacazei* toimub ootsüstide tootmine 5.–9. päeval ja III katsejärgu proovide võtmine langes just sellesse ajavahemikku.

Olulist rolli mängib ka nakkuskolde asukoht peensooles. Allen & Danforth (1998) täheldasid, et *E. acervulina* ja *E. maxima*, kelle nakkuskolded on peesoole ülemises ja keskmises osas, alandavad oluliselt kehamassi, ent umbsooles nakkuskoldeid tekitav *E. tenella* kehamassi langust ei põhjusta. Et toitainete absorbeerumine toimub peesoole ülemises osas, on ootuspärane, et duodenumis

lokaliseeruva *Isoospora lacazei*'ga nakatamise tagajärjel rohevintide kehamass siinses katses langes.

Kehamassi alanemine võib seotud olla ka nakatunud isendite toitumiskäitumise muutumisega – nad kulutavad vähem aega/energiat toitumisele ega pruugi seetõttu vajalikke toitaineid piisavas koguses kätte saada (McGraw & Hill 2000a). Siiski arvavad mõned autorid, et kehamass ei pruugi olla koktsiidinakkuse suhtes väga tundlik parameeter ja et mõju kehamassile avaldub vaid suurte nakatusdooside korral (Conway jt 1993, Allen 1997a).

Triglütseriidide kontsentratsioon seerumis, mis katses oli kõrgem ravitud isenditel, näitab rasvade omastamise efektiivsust (Jenni-Eiermann & Jenni 1996). Triglytseriidide taseme langust kanadel täheldas Allen (1987) katses *Eimeria acervulina*'ga, kelle nakkuskolle on, nagu *Isoospora lacazei*'l, samuti duodenumis. Turki (1974) katses eri *Eimeria* liikidega ilmnes samuti, et rasvade absorbeerumisele mõjuvad kõige kriitilisemalt just duodenumis lokaliseeruvad nakkuskolded. Valkude imendumist duodenumi nakkuskolded ei mõjutanud või oli mõju minimaalne (Turk 1974). Ka antud katses ei mõjutanud koktsiidinakkus seerumivalkude üldkontsentratsiooni. Siiski on katses kanadega üldvalkude taseme alanemist koktsiidinakkuse tagajärjel täheldanud Allen (1987). Samas on mõned autorid arvamusel, et infektsiooniaegne valguvaene dieet võib vähendada parasiidi poolt põhjustatud kahjustusi, kuna ootsüstid ei saa trüpsiini vähese aktiivsuse tõttu ekstsüteeruda ja nii võib valgurikas toit parasiidi arengut toetada (Crevieu-Gabriel & Naciri 2001 ülevaade).

Suurima kontsentratsiooniga üldvalgu – albumiini kontsentratsioon oli kõrgem ravitud isenditel. Albumiini teatakse toimivat ka plasma antioksidandina ja selle kontsentratsiooni langust on täheldatud *E. maxima*'ga nakatatud kanadel (Allen & Fetterer 2002b). Albumiinide ja globuliinide suhtarv, mis tõuseb põletikuliste protsesside tulemusena, oli ka siinses katses kõrgem nakatatud isenditel.

Leukotsüütide üldhulga tõusu koktsiidinakkuse tagajärjel on täheldanud Goldova jt (2000) katses faasanitega ja Loószová jt (2001) katses kanadega. Siinses katses oli leukotsüütide üldhulk nakatunud isenditel kõrgem peamiselt tänu heterofiilide suuremale kontsentratsioonile nakatunud isenditel. Heterofiilide kontsentratsiooni tõusu koktsiidinakkuse tagajärjel on täheldatud ka Rose jt (1979) ja Goldova jt (2000). Paljud katsed on täheldanud ka nakatamisele järgnevat

lümfootsütoosi (Rose 1979, Goldova jt 2000, Loószová jt 2001), ent siinses katses manipulatsioon lümfootsütide kontsentratsiooni oluliselt ei mõjutanud.

McKee & Harrison (1995) täheldasid katses *E. tenella*'ga heterofiilide ja lümfootsütide suhtarvu langust, mis võib anda märku rakulise immuunsuse tõusust, ent siinses katses heterofiilide ja lümfootsütide suhtarvu ja nakkuse vahel olulist seost polnud.

Plasma karotinooidide taseme alanemist koktsiidinakkuse tagajärjel on täheldatud paljudes katsetes kodulindudega (Allen 1987, 1992, 1997a, 2000, Ruff ja Fuller 1975, Tyczkowski jt 1991, Matthews jt 1997, Zhu jt 2000, Allen & Fetterer 2000) ja seda peetakse väga tundlikuks parameetriks koktsidioosi korral (Conway jt 1993, Zhu jt 2000). Conway (1993) täheldas katses *Eimeria acervulina*'ga, et juba doos 100 ootsüsti alandas kanadel plasma karotinooidide taset. Nakatamisel *E. tenella*'ga alanes plasma karotinooidide tase alates doosist 1000 ootsüsti, kusjuures *E. tenella* on oluliselt patogeensem kui *E. acervulina* (Rose jt 1979). Ent *E. tenella* infektsioonikoht on valdavalt peensoole distaalses osas, samas kui *E. acervulina* nakatab peamiselt peensoole esimest osa, duodenumit (Ruff & Fuller 1975, Rose 1979) nagu ka perekond *Isospora* (Giacomo jt 1997). Karotinooidide absorbeerumiskohaks on samuti peensoole esimene osa, duodenum (Tyczkowski jt 1991, Sironi 1994). Seetõttu võib arvata, et soolestiku epiteeli parasiidi poolt põhjustatud kahjustuste tõttu on karotinooidide absorbeerumine duodenumis tugevasti häiritud. Lisaks on plasma karotinooidid väga tundlikud oksüdatsioonile vabade radikaalide poolt, mida mittespetsiifilise immuunvastuse käigus infektsioonikohas produtseeritakse (Allen jt 1996, Allen 1997a). Oksüdatiivse stressi tugevus sõltub parasiidi immunogeensusest. Nt Allen jt (1997a) täheldas oma katses kanadega, et *E. maxima* nakkuse korral plasma karotinooidide tase alanes doosist 500 ootsüsti, kehamass aga hakkas alanema alates doosist 5000 ootsüsti. Allen pakkus välja seletuse, et 500 ootsüsti on liiga väike doos, et mõjutada toitainete absorbeerumist, ent võib olla piisavalt immunogeenne, et aktiveerida makrofaage tootma vabu radikaale ja alandada nii plasma karotinooidide hulka. Lisaks ei pruugi parasiidid iseenesest alati tekitada nii tugevaid epiteelkahjustusi, vaid just vabade radikaalide tegevus võib põhjustada tugevat patoloogiat soolestiku epiteelis (Allen 1997a). Perekond *Isospora* eri liikide immunogeensuse kohta paraku andmeid ei ole. Üldiselt peetakse perekonda *Isospora* vähem immuno- ja patogeenseks kui perekonda *Eimeria*. Siiski on uuringuid, mis on

näidanud ka *Isoospora* letaalset mõju lindudele ja just toitumusseisundi alanemise tõttu (Cooper 1989, Sironi 1994, Giacomo jt 1997). Arvestades seda, et siinses katses alanes rohevintidel 2000 *Isoospora lacazei* ootsüstiga nakatamise tagajärjel oluliselt nii plasma karotinoidide tase kui ka kehamass nakkuse tippfaasis koos teiste isendi toidu omastamise efektiivsust iseloomustavate parameetritega, võib arvata, et *Isoospora lacazei* on rohevintide jaoks küllaltki patogeenne koktsiidiliik.

Vitamiin E kontsentratsiooni alanemist on täheldatud *E. maxima*'ga nakatatud kanadel (Allen & Fetterer 2002b). Vitamiin E taseme alanemine koktsiidinakkuse korral võib olla oksüdatiivse stressi tagajärg (Allen jt ülevaade 1998), samuti võib põhjuseks olla ka limaskihi kahjustustest tulenev vähenenud absorbeerumine (Allen & Fetterer 2002b). Vitamiin A taseme erinevus kahe grupi vahel polnud siinses katses oluline. Võrreldes karotinoididega peetakse vitamiin A-d ka suhteliselt nõrgaks antioksüdandiks (Rock 1997).

4.3 Manipulatsiooni mõju sulestiku värvusele

Paljastavate indikaatormehhanismide hüpoteesi kohaselt (Andersson ülevaade 1994) annavad silmatorkavad sekundaarsed sootunnused märku isendi kvaliteedist – vaid väga heas konditsioonis isendid saavad endale lubada selliste tunnuste väljaarendamist, kuna need on kulukad. Hamiltoni ja Zuki (1982) hüpoteesi kohaselt parasiitide vahendatud sugulise valiku kohta signaaliseerivad ornamendid isendi parasiidiresistentsusest – nakatunud isendid peavad suunama oma ressursid nakkusega toimetulekuks ega saa neid kasutada sekundaarsete sootunnuste väljaarendamiseks.

Kuna karotinoidid mängivad lisaks sekundaarsete sootunnuste väljakujundamisele olulist rolli ka immuunvastuses, siis võib arvata, et sekundaarsetesse sootunnustesse saavad karotinoide suunata ainult need isendid, kes ei pea samal ajal võitlema nakkusega. Sellest tulenevalt peaks eredam karotinoidne sulestik signaaliseerima isendi nakkusvabast seisundist. Parasitismi negatiivne mõju karotinoidsele pigmentatsioonile on paljudes katsetes ka tõestust leidnud. Nt Harperi (1999) katse aed-karmiinleevikesega (*Carpodacus mexicanus*) ja Figuerola jt (2003) katse koldvindiga (*Serinus serinus*) näitasid, et intensiivsema tiivalestade (*Acari*, *Proctophylloidae*) nakkusega isenditel oli tuhmim sulestik.

Rohevintide sulestikule iseloomuliku kollase värvuse annavad peamiselt kanaari ksantofüllid ja luteiin, mis on väidetavalt sulestikus leiduvate karotinoide prekursor (Stradi jt 1995). Et rohevintide sabal, tiival ja kõhul olevad kollaselt värvunud sulepartiid funktsioneerivad sugulises valikus oluliste ornamentidena, sellele viitavad Eley (1991) vaatlustulemused. Eredamate sulepartiidega isastel oli rohkem paariväliseid kopulatsioone ja sellised isased olid teistkordsel paarumisel emaste poolt eelistatud. Samuti peegeldab rohevintide karotinoide sulestik nende immunokompetentsi ja üldist tervislikku seisundit (Saks jt 2003a).

Lindströmi ja Lundströmi (2000) katse näitas, et eredama sulestikuga rohevindid vabanesid kiiremini Sindbis-viirusnakkusest. Merilä jt (1999) vaatlustulemustest aga selgus, et kergema vereparasiitide nakkusega rohevintidel oli eredam sulestik kui nakkusvabadel ja tugevasti nakatunud isenditel.

Kuna koktsiidinakkusest tingitud soolestikukahjustuste tõttu on karotinoide absorbeerumine häiritud ja sellest tulenevalt alanenud ka plasma karotinoide tase, siis võib ennustada, et koktsiidinakkuse all kannatavate isendite sulgedes on samuti karotinoide sisaldus väiksem ja sulestik on tuhmim kui tervetel isenditel. Siinse katse tulemused seda ka näitasid. Koktsiidide poolt põhjustatud nn kahvatu linnu sündroomi on täheldanud Tyczkowski jt (1991) katses kanadega – *E. acervulina* nakkuse tagajärjel vähenes kanadel luteiini sisaldus jalgade nahas. Metsikutel lindudel esineva koktsiidinakkuse ja sulestiku pigmentatsiooni vaheliste seoste kohta tehtud katsetulemused on samuti näidanud koktsiidide negatiivset mõju karotinoide pigmentatsioonile – Brawneri jt (2000) katse aed-karmiinleevikesega (*Carpodacus mexicanus*) näitas, et koktsiidi *Isospora spp*' ga nakatatud isendite sulestik oli vähem punane ja tuhmim kui tervetel isenditel. McGraw & Hilli (2000a) katses kuldsiisikesega (*Carduelis tristis*) ilmnes samuti isosporoosse nakkuse negatiivne seos karotinoide sulestiku ja noka värvuse eredusega.

Siinse katses ilmnes veel, et looduses kasvanud suled sisaldasid siiski rohkem karotinoide kui laboris kasvanud suled mõlemas katserühmas, samuti olid looduses kasvanud sulgede tooni ja värvipuhutuse väärtused kõrgemad. Kuna vangistuses pidamise ajal rohevindid karotinoide sisaldavat lisatoitu ei saanud, viitavad saadud andmed sellele, et karotinoide puudus dieedis võib rohevintidel oluliselt limiteerida ereda sulestiku väljaarendamist. Näiteks McGraw ja Hilli (2001) katse kuldsiisikestega näitas, et vangistuses ja päevalilleseemnedieedil olevate isendite

sulestik oli oluliselt tuhmim, võrreldes vabalt elavate isendite sulestikuga. Siinses katses ilmnenu taasnakatamise tugev mõju lindude füsioloogiale annab põhjuse oletada, et *Isoospora lacazei* on rohevintide jaoks küllaltki patogeenne parasiit. Kuna nakatamine ei toimunud isendilt endalt võetud parasiiditüvedega, võib oletada, et *Isoospora lacazei* eri tüved võivad olla eri patogeensusuga ja et immuunsus ühe *I. lacazei* tüve suhtes ei pruugi automaatselt tagada immuunsust kõigi *I. lacazei* tüvede suhtes. Katsed kõige immunogeensema *Eimeria* liigi, *Eimeria maxima* eri tüvedega on näidanud, et nakatamine ühe subpopulatsiooniga ei taga kaitset parasiidi teiste subpopulatsioonide vastu või on kaitse ainult osaline, sõltuvalt peremehe genotüübist (Martin jt 1997, Smith jt 2002). Ka rohevintidel võib koktsiidinakkuse mõju sõltuda nii peremeeste kui ka parasiitide geneetilisest varieeruvusest.

Kokkuvõttes võib katses saadud andmetele tuginedes väita, et *Isoospora lacazei* nakkus on rohevindile kulukas, alandades tugevasti toitumusseisundit ja viies alla plasma karotinooidide taseme ning põhjustades tuhmima karotinooidse sulestiku. Seega võib *Isoospora lacazei* mängida olulist rolli parasiitide vahendatud sugulises valikus rohevintidel.

Kokkuvõte

Parasiidid mängivad olulist rolli peremehe elukäigus ja eelkõige sugulises valikus. Sugulises valikus oluliste sekundaarsete sootunnuste hinnast tulenevalt saavad intensiivsemalt ornamenteeritud tunnuseid endale lubada vaid väga heas konditsioonis isendid. Parasiitide vahendatud sugulise valiku hüpotees eeldab, et silmatorkavad sekundaarsed sootunnused signaalseerivad nende kandja kvaliteedist. Lindudel esinevat karotinooididel baseeruvat sulestikku peetakse usaldusväärseks signaaliks isendi konditsioonist, kuna esineb lõivsuhe karotinooidide suunamisel elutähtsatesse füsioloogilistesse protsessidesse ja signaalseerimisse. Parasiitidest väärivad selles kontekstis tähelepanu sooleparasiidid, kes võivad pärssida karotinooidide ja teiste metaboliitide imendumist.

Käesolevas töös uuriti eksperimentaalselt koktsiidi *Isoospora lacazei* nakkuse mõju vangistuses peetavate isaste rohevintide (*Carduelis chloris*) tervisele ja ornamentaalsele sulestikule. Katses osalenud 28 linnul mõõdeti 14 erinevat konditsiooninäitajat – peamiselt hematoseeroloogilised parameetrid – ja sulestiku

parameetreid. Katse-eelselt oli 89% lindudest looduslikult nakatunud ning ravi tulemusena nakkus kadus. Pärast ravi nakatati pooled (14) linnud oraalset 2000 *Isoospora lacazei* ootsüstiga, pooled jätkasid ravi. Taasnakatamine põhjustas lindude kehamassi, triglütseriidide ja albumiinide kontsentratsiooni ning albumiinide ja globuliinide suhtarvu languse, mis annab märku toitainete imendumise häiritusest duodenumi ja tühisoole epiteeli kahjustuste tagajärjel. Plasma antioksidantidest langes nakatatud lindudel plasma karotinoide ning vitamiin E kontsentratsioon; vitamiin A kontsentratsioonile nakatamine mõju ei avaldanud. Leukotsüütsetest näitajatest tõusis nakatatud lindudel leukotsüütide üldhulk ja heterofiilide kontsentratsioon, mis näitab tugeva patoloogia teket. Sulestiku parameetritest sisaldasid nakatatud lindude sabasuled 52% vähem karotinoide kui ravitutel, samuti olid nakatatud isenditel madalamad sabasulgede välislaba värvi puhtuse ja tooni ning rinnasulgede tooni väärtused. Saadud andmetele tuginedes võib väita, et koktsiid *Isoospora lacazei* võib rohevintidel mängida olulist rolli parasiitide vahendatud sugulises valikus, põhjustades tuhmima karotinoide sulestiku ning mõjutades oluliselt peremehe tervist, eelkõige toitumusseisundi alandamise kaudu.

The effect of experimental coccidial infection on health and plumage coloration on greenfinches (*Carduelis chloris*)

Summary

Life-history traits and secondary sexual characters often demonstrate condition-dependence. The theory of parasite mediated sexual selection suggest that elaborated secondary sexual traits signal individual quality. Carotenoid-based plumage coloration of birds has been hypothesised to honestly reflect an individual's health status due to trade-off in allocation of carotenoids between maintenance and signalling function. Intestinal parasites might inhibit the absorption of carotenoids and other metabolites.

In this study, we tested experimentally the effect of infection by coccidian parasite, *Isoospora lacazei*, on the health indices and carotenoid-based plumage in captive male greenfinches (*Carduelis chloris*). The 14 condition indices (mostly hematological parameters) and plumage parameters were measured in 28 birds. 89% of birds were infected before experiment and infection disappeared after medication.

After medication half of birds (14) were infected orally with 2000 sporulated oocysts of *Isospora lacazei*, half of birds continued medication. Reinfection caused drastic decreases in triglyceride, albumin, albumin/globulin ratio and body weight, indicating malsorption of nutrients, resulting from coccidia-induced tissue damage most likely in duodenal and jejunal part of the intestine. Infection caused also smaller plasma carotenoid and vitamin E but not vitamin A hemoconcentrations in infected birds. Serious pathology was also indicated by raised heterophil and leukocyte counts in the birds of infected group. Tail feathers of infected birds contained 52 % less carotenoids and infected birds had also smaller values of chroma and hue in tail inner vane and breast hue than these of the cured birds. These findings support the notion that coccidian *Isospora lacazei* may play essential role in parasite-mediated sexual selection in greenfinches by causing duller carotenoid-based plumage and affecting the health status of greenfinches by reducing nutrition status

Tänuavaldused

Kõigepealt tahan tänada oma juhendajat Peeter Hõrakut vaevanägemise ja kannatlikkuse eest, suured tänud Lauri Saksale abi eest laboris ja heade nõuannete eest, Indrek Otsale hematoseroloogiliste analüüside tegemise eest, Helen Vellaule, kes loendas leukotsüüte, Peter Suraile plasma karotinoidide ja vitamiinide kontsentratsioonide määramise eest ja Kevin McGraw'le sulestiku karotinoidide sisalduse määramise eest. Samuti tahan tänada teisi töögrupi liikmeid Lea Tummelehte ja Ene Sarapuud, kes olid abiks katse läbiviimisel ja andmete kogumisel, aitäh Heli Talvikule ja Aleksei Turovskile, kes aitasid meetoodika poole pealt ning Kanni Labile keelelise korrektuuri tegemise eest.

Kasutatud kirjandus

Agnew P, Koella JC, Michalakis Y (2000). Host life history responses to parasitism. *Microbes and Infection* 2:891-896

Allen PC (1987). Effect of *Eimeria acervulina* infection on chick (*Gallus domesticus*) high density lipoprotein composition. *Comparative Biochemistry and Physiology, B* 87:313-319

Allen PC. (1992). Effect of coccidiosis on the distribution of dietary lutein in the chick. *Poultry Science* 71: 1457-1463

Allen PC, Danforth HD, Morris VC, Levander OA (1996). Association of lowered plasma carotenoids with protection against cecal coccidiosis by diets high in n-3 fatty acids. *Poultry Science* 75:966-972

Allen PC (1997a). Production of free radical species during *Eimeria maxima* infections in chickens. *Poultry Science* 76:814-821

Allen PC (1997b). Nitric oxide production during *Eimeria tenella* infections in chickens. *Poultry Science* 76:810-813

Allen PC, Danforth H, Levander OA (1997a). Interaction of dietary flaxseed with coccidia infections in chickens. *Poultry Science* 76:822-827

Allen PC, Lydon J, Danforth H (1997b). Effects of components of *Artemisia annua* on coccidia infections in chickens. *Poultry Science* 76:1156-1163

Allen PC, Danforth HD (1998). Effects of dietary supplementation with n-3 fatty acid ethyl esters on coccidiosis in chickens. *Poultry Science* 77:1631-1635

Allen PC, Danforth HD, Augustine PC (1998). Dietary modulation of avian coccidiosis. *International Journal for Parasitology* 28:1131-1140

Allen PC, Fetterer RH (2000). Effect of *Eimeria acervulina* infections on plasma L-arginine. *Poultry Science* 79:1414-1417

Allen PC (2000). Effects of treatments with cyclooxygenase inhibitors on chickens infected with *Eimeria acervulina*. Poultry Science 79:1251-1258

Allen PC, Fetterer RH (2002a). Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. Clinical Microbiology Reviews 15:58-65

Allen PC, Fetterer RH (2002b). Interaction of dietary vitamin E with *Eimeria maxima* infections in chickens. Poultry Science 81:41-48

Andersson M (1994). Sexual selection. Princeton University Press, Princeton, NJ

Bennett GF (1970). Simple techniques for making avian blood smears. Canadian Journal of Zoology 48:585-586

Blount J, Metcalfe N, Birkhead T, Surai P (2003). Carotenoid modulation of immune function and sexual attractiveness in Zebra finches. Science 300:125-127

Brawner WR, Hill GE, Sundermann CA (2000). Effects of coccidial and mycoplasmal infections on carotenoid- based plumage pigmentation in male House Finches. Auk 117:952-963

Brown MS, Shapiro H (1996). Effect of protein intake on erythropoiesis during erythropoietin treatment of anemia of prematurity. Journal of Pediatrics 128:512-517

Clayton DH (1991). The influence of parasites on host sexual selection. Parasitology Today 7:329-334

Coles BH (1997). Avian medicine and surgery. Blackwell Science, Oxford

Conway DP, Sasai K, Gaafar SM, Smothers CD (1993). Effects of different levels of oocyst inocula of *Eimeria acervulina*, *Eimeria tenella*, and *Eimeria maxima* on plasma constituents, packed cell volume, lesion scores, and performance in chickens. Avian Diseases 37:118-123

Cooper JE, Gschmeissner S, Greenwood AG (1989). Atoxoplasma in greenfinches (*Carduelis chloris*) as a possible cause of "going light". Veterinary Record 124:343-344

Creveieu-Gabriel M, Naciri M (2001). Effet de l'alimentation sur les coccidioses chez le poulet. INRA Productions Animales 14:231-246

Giacomo R, Stefania P, Ennio T, Giorgina VC, Giovanni B, Giacomo R (1997). Mortality in black siskins (*Carduelis atrata*) with systemic coccidiosis. Journal of Wildlife diseases 49:152-157

Darwin, C (1871). The descent of man and selection in relation to sex. Murray, London.

De Freitas M FL, De Oliveira JB, De Brito Cavalcanti M D., De Freitas DA (2003). Occurrence of coccidiosis in canaries (*Serinus canarius*) being kept in private captivity in the state of Pernambuco, Brazil. Parasitologia Latinoamericana 58: 86 - 88

Dein J (1986). Hematology. In: Harrison GJ, Harrison WR (eds). Clinical avian medicine Saunders Co, London, pp 174-191

Dolnik O (2003). Some aspects of the biology and host-parasite interactions of *Isospora spp.* (Protozoa: Coccidiida) of passerine birds. Dissertationen. Journal für Ornithologie 144 (3)., 377-382.

Duckworth RA, Mendonca MT, Hill GE (2001). The condition dependence of testosterone and its relation to coccidial infection in the house finch. Proceedings of the Royal Society of London, B: Biological Sciences 268:1-6

Endler JA (1990). On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. Biological Journal of the Linnean Society 41:315-352

Faivre B, Gregoire A, Preault M, Cezilly F, Sorci G (2003). Immune activation rapidly mirrored in a secondary sexual trait. Science 300:103

Figuerola J, Domenech J, Senar JC (2003). Plumage colour is related to ectosymbiont load during moult in the serin, *Serinus serinus*: an experimental study. Animal Behaviour 65:551-557

Goldova M, Pistl J, Letkova V, Cizsmarova G, Revajova V, Loószova A, Levkut M (2000). Cellular immunological responses of pheasant during endogenous development of *Eimeria colchici*. *Parasitology International* 49:147-154

Greif G, Harder A, Haberkorn A (2001). Chemotherapeutic approaches to protozoa: Coccidia-current level of knowledge and outlook. *Parasitology Research*. 87(11):973-5.

Gross WB, Siegel HS (1983). Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Diseases* 27:972-979

Harper DCG (1999). Feather mites, pectoral muscle condition, wing length and plumage coloration of passerines. *Animal Behaviour* 58:553-562

Hamilton WD, Zuk M (1982). Heritable true fitness and bright birds: a role of parasites. *Science* 218:384-387

Hillgarth, N (1990).. Parasites and female choice in the ring-necked pheasant. *American Zoologist* 30:227-233.

Hill GE, Montgomerie R (1994). Plumage colour signals nutritional condition in the house finch. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 258:47-52

Hoerr, FJ (1998). Pathogenesis of enteric diseases. *Poultry Science* 77:1150-1155

Hoste H (2001). Adaptive physiological processes in the host during gastrointestinal parasitism. *International Journal for Parasitology* 31:231-244

Hörak P, Ots I, Tegelman L, Møller A (2000). Health impact of phytohaemagglutinin-induced immune challenge on great tit nestlings. *Canadian Journal of Zoology* 7:905-910

Jenni-Eiermann S, Jenni L (1998). What can plasma metabolites tell us about the metabolism, physiological state and condition of individual birds? An overview. *Biologia E Conservazione Della Fauna* 102:312-319.

Kaleta, E. F. and A. L. Bolte (2000). Vorkommen und Bekämpfung der Kokzidiose der Tauben. *Praktischer Tierarzt* 81:476-482.

Kawai T (1973). Clinical aspects of the plasma proteins. Igaku Shoin Ltd., Tokyo

Krebs and Davies (1993).. *An Introduction to Behavioural Ecology* 3rd Ed. Blackwell Scientific Publishers.

Lawler EM, Redig PT (1984). The antibody responses to sheep red blood cells of the Red-tailed Hawk and Great-horned Owl. *Developmental and Comparative Immunology* 8:733-738

Levine, N. D. (1982). *Isoospora passeris*, new species from the house sparrow *Passer domesticus*, *Isoospora lacazei* and related apicomplexan protozoa. *Transactions of the American Microscopical Society* 101: 66-74

Lindström K, Lundström J (2000). Male greenfinches (*Carduelis chloris*) with brighter ornaments have higher virus infection clearance rate. *Beh. Ecol. Sociobiol.* 48:44-51

Lindström, K (2000). Bird-parasite interactions: using Sindbis virus as a model system. *Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertation from the Faculty of Science & Technology* 557

Loószova A, Revajova V, Levkut M, Pisl J (2001). Pathogenesis of *Eimeria colchici* in the intestine of chickens and the related immune response. *Acta Veterinaria, Brno* 70: 191-196

Lozano GA (1994). Carotenoids, parasites and sexual selection. *Oikos* 70:309-311

Martin, AG, Danforth, HD, Barta, JR and Fernando, MA (1997). Analysis of immunological cross-protection and sensitivities to anticoccidial drugs among five geographical and temporal strains of *Eimeria maxima*. *International Journal for Parasitology* 27: 527-533.

Martin TE, Müller AP, Merino S, Clobert J (2001). Does clutch size evolve in response to parasites and immunocompetence? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:2071-2076

Martin LBI, Scheuerlein A, Wikelski M (2003). Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs? *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 270:153-158

Matthews JO, Ward TL, Southern LL (1997). Interactive effects of betaine and monensin in uninfected and *Eimeria acervulina*-infected chicks. *Poultry Science* 76:1014-1019

Maxwell MH (1993). Avian blood leucocyte responses to stress. *World's Poultry Science Journal* 49:34-43

McDonald V (2000). Host cell-mediated responses to infection with *Cryptosporidium*. *Parasite Immunology* 22:597-604

McDougald LR. (1998). Intestinal Protozoa important to poultry. *Poultry Science* 77:1156-1158

McGraw, KJ. and Hill GE (2000a). Differential effects of endoparasitism on the expression of carotenoid- and melanin-based ornamental coloration. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* 267:1525-1531.

McGraw, KJ. and Hill GE (2001). Carotenoid access and intraspecific variation in plumage pigmentation in male American Goldfinches (*Carduelis tristis*). and Northern Cardinals (*Cardinalis cardinalis*). *Functional Ecology* 15:732-739

McGraw, KJ, Hill GE, Stradi R, and Parker RS (2002). The effect of dietary carotenoid access on sexual dichromatism and plumage pigment composition in the American Goldfinch. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 131:261-269

McGraw KJ, Ardia DR (2003). Carotenoids, immunocompetence, and the information content of sexual colors: An experimental test. *American Naturalist* 162:704-712

McQuiston, TE (2000).. The prevalence of coccidian parasites in passerine birds from South America. Transactions of the Illinois State Academy of Science. 93 (3) 221 - 227

McKee JS, Harrison PC (1995). Effects of supplemental ascorbic acid on the performance of broiler chickens exposed to multiple concurrent stressors. Poultry Science 74:1772-1785

Merilä, J, Sheldon BC, Lindström K (1999). Plumage brightness in relation to haematozoan infections in the greenfinch *Carduelis chloris*: Bright males are a good bet. Ecoscience 6:12-18.

Møller AP, Biard C, Blount JD, Houston DC, Ninni P, Saino N, Surai PF (2000). Carotenoid-dependent signals: Indicators of foraging efficiency, immunocompetence or detoxification ability? Avian and Poultry Biology Reviews 11:137-159

Møller AP (2000). Survival and reproductive rate of mites in relation to resistance of their barn swallow hosts. Oecologia 124:351-357

Nolan PM, Hill GE, Stoehr AM (1998). Sex, size and plumage redness predict house finch survival in an epidemic. Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences 265:961-965

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: Biological Sciences 265:1291-1298

Norris K, Evans M (2000). Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. Behavioral Ecology 11:19-16

Norton, CC.(1976). Coccidia of the pheasant. Folia Veterinaria of Latin 6 :218-238

Ohlsson T, Smith HG, Raeberg L, Hasselquist D (2002). Pheasant sexual ornaments reflect nutritional conditions during early growth. Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences 269:21-27

- Olson V, Owens IPF (1998). Costly sexual signals: are carotenoids rare, risky or required. *Trends in Ecology & Evolution* 13:510-514
- Ots I, Hõrak P (1996). Great Tits *Parus major* trade health for reproduction. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 263:1443-1447
- Ots I, Murumägi A, Hõrak P (1998). Hematological health state indices of reproducing Great Tits: methodology and sources of natural variation. *Functional Ecology* 12:700-707
- Ots I, Kerimov AB, Ivankina EV, Ilyina TA, Hõrak P (2001). Immune challenge affects basal metabolic activity in wintering great tits. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 268, 1175–1181
- Owens IPF, Wilson K (1999). Immunocompetence: a neglected life history trait or conspicuous red herring? *Trends in Ecology & Evolution* 14:170-172
- Parslow TG (1994). The phagocytes: neutrophils and macrophages. *Basic and clinical immunology* Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut, pp 9-20
- Reck M, McQuisition TE (1994). The anticoccidial effects of amprolium, monesin and sodium sulfamethazine in farm-reared chukar partridges (*Alectoris graeca*) in Illinois. *Transactions of the Illinois State Academy of Science* Vol 87:51-59
- Rock CL, Jacob RA, Bowen PE (1996). Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association* 96:693-702
- Rose EM, Hesketh P, Ogilvie BM (1979). Peripheral blood leucocyte response to coccidial infection: a comparison of the response in rats and chickens and its correlation with resistance to reinfection. *Immunology* 36:71-79
- Ruff, MD and Fuller HL (1975). Some mechanisms of reduction of carotenoid levels in chickens infected with *Eimeria acervulina* or *E. tenella*. *Journal of Nutrition* 105:1447-1456.

- Saks L, Ots I, Horak P (2003a). Carotenoid-based plumage coloration of male greenfinches reflects health and immunocompetence. *Oecologia* 134:301-307
- Saks L, McGraw K, Horak P (2003b). How feather colour reflects its carotenoid content. *Functional Ecology* 17:555-561
- Scholtyssek E (1979). Fine structure of parasitic Protozoa. Berlin, Springer-Verlag
- Senar JC, Figuerola J, Domenech J (2003). Plumage coloration and nutritional condition in the great tit *Parus major*: the roles of carotenoids and melanins differ. *Naturwissenschaften* 90:234-237
- Seutin G (1994). Plumage redness in redpoll finches does not reflect hemoparasitic infection. *Oikos* 70:280-286
- Sheldon BC, Verhulst S (1996). Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 11:317-321
- Siegel HS (1985). Immunological responses as indicators of stress. *World's Poultry Science Journal* 41:36-44
- Sironi, G (1994). Concurrent calicivirus and *Isospora lacazei* infection in goldfinches (*Carduelis carduelis*). *Veterinary Record* 134:196
- Smith AL, Hesketh P, Archer A, Shirley MW (2002). Antigenic diversity in *Eimeria maxima* and the influence of host genetics and immunization schedule on cross-protective immunity. *Infection and Immunity* 70:2472-2479
- Stearns S (1989). Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology* 3:259-268
- Surai PF, Speake BK (1998). Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo. *Journal of Nutritional Biochemistry* 9:645-651
- Tschirren B, Fitze PS, Richner H (2003). Proximate mechanisms of variation in the carotenoid-based plumage coloration of nestling great tits (*Parus major* L.). *Journal of Evolutionary Biology* 16:91-100

Turk, D. E. 1974. Intestinal parasitism and nutrient absorption. Federation Proceedings 33:106-111.

Tyczkowski JK, Hamilton PB, Ruff MD (1991). Altered metabolism of carotenoids during pale-bird syndrome in chickens infected with *Eimeria acervulina*. Poultry Science 70:2074-2081

Vershinin A (1999). Biological functions of carotenoids - diversity and evolution. BioFactors 10:99-104

Weatherhead PJ, Metz KJ, Bennett GF, Irwin RE (1993). Parasite faunas, testosterone and secondary sexual traits in male red-winged blackbirds. Behavioural Ecology & Sociobiology 33:13-23

Zahavi A (1975). Mate selection - a selection for a handicap. Journal of Theoretical Biology 53:205-215

Zahn SN, Rothstein SI (1999). Recent increase in male house finch plumage variation and its possible relationship to avian pox disease. Auk 116:35-44

Zhu JJ, Lillehoj HS, Allen PC, Yun CH, Pollock D, Sadjadi M, Emara MG (2000). Analysis of disease resistance-associated parameters in broiler chickens challenged with *Eimeria maxima*. Poultry Science 79:619-625

Zuk M, Johnsen TS, Maclarty T (1995). Endocrine-immune interactions, ornaments and mate choice in red jungle fowl. Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences 260:205-210

Zuk M, Kim T, Robinson SI and Johnsen TS (1998). Parasites influence social rank and morphology, but not mate choice, in female red junglefowl, *Gallus gallus*. Animal Behaviour 56, 493-499

Zuk M, Stoehr AM (2002). Immune defense and host life history. American Naturalist 160:9-22