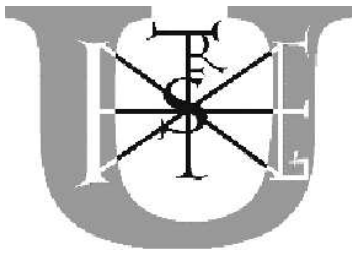


SZENT ISTVÁN EGYETEM

A HÍM SEREGÉLY SZAPORODÁSÁNAK NEUROENDOKRIN SZABÁLYOZÁSA

Doktori (PhD) értekezés

PINTÉR OTTÓ

Gödöllő

2012

A doktori iskola

megnevezése:	**Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola**
tudományága:	**Mezőgazdaság-tudomány**
vezetője:	**Prof. Dr. Mézes Miklós** **tanszékvezető, egyetemi tanár, az MTA doktora** **SzIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar** **Takarmányozástani Tanszék**
témavezető:	**Prof. Dr. Péczely Péter** **egyetemi tanár, az MTA doktora** **SzIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar** **Szaporodásbiológiai Laboratórium**

……. **……..**

Prof. Dr. Mézes Miklós **Prof. Dr. Péczely Péter**

Az iskolavezető jóváhagyása **A témavezető jóváhagyása**

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék
Rövidítések

1. BEVEZETÉS és CÉLKITŰZÉS 1
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS 5

2.1. A seregély jellemzése 5

2.2. A szaporodás szezonalitása 6

2.3. A szaporodás neuroendokrin háttere 8

2.4. A madár here leírása 9
2.4.1. A herék aszimmetriája és mérete 10
2.4.2. A here felépítése és szerkezete 10
2.4.2.1. A heretok 10
2.4.2.2. A kanyarulatos csatornák 11
2.4.2.3. Az interstitium 12
2.4.3. A herefunkció évszakos változása 13

2.5. A madár mellékvese leírása 14
2.5.1. A mellékvese szerkezete és felépítése 15
2.5.1.1. A velőállomány 15
2.5.1.2. A kéregállomány 15
2.5.2. A kéregállomány hormonjai 17
2.5.2.1. A mineralokortikoidok keletkezése, hatása és szerepe 17
2.5.2.2. A glükokortikoidok keletkezése, hatása és szerepe 18
2.5.2.3. Az adrenalis szex szteroidok keletkezése, hatása és szerepe 19
2.5.3. A mellékvesekéreg funkció évszakos változása 20
2.5.3.1. Az aldoszteron évszakos változása 20
2.5.3.2. A B évszakos változása 21
2.5.3.3. A DHEA évszakos változása 22

2.6. A madarak reproduktív magatartása 23
2.6.1. A reproduktív magatartás leírása, típusai 23
2.6.2. A reproduktív magatartás központi szabályozása 24
3. ANYAG és MÓDSZER 27

3.1. Kísérleti állatok 27

3.2. A klimatikus tényezők meghatározása 27

3.3. Kísérleti protokoll 27

3.4. A vér szteroidtartalmának meghatározása ^{3}H-RIA módszerrel 28
3.4.1. Az extrakció menete 28
3.4.2. A RIA menete 29
3.4.3. A meghatározás menete 30

3.5. Paraffinos metszetek szövettani vizsgálata 31

3.5.1. A zsírszövet morfometriai vizsgálata 31
3.5.2. A here morfológiai és morfometriai vizsgálata 31
3.5.2.1. A here térfogata 31
3.5.2.2. A tunica albuginea vastagsága 32
3.5.2.3. A heretubulusok keresztmetszetének a területe 32
3.5.2.4. Az interstitium vastagsága 32
3.5.2.5. A germinális epithelium vastagsága 32
3.5.2.6. Sejttípusok meghatározása és kvantifikálása 32
3.5.3 A mellékvese morfológiai és morfometriai vizsgálata 33
3.5.3.1. A mellékvese interrenalis és adrenalis hányadosának vizsgálata 33
3.5.3.2. Az interrenalis állomány 3 zóna sejtmagméretének a vizsgálata 33

3.6. Az agy szövettani vizsgálata 33
3.6.1. A gonadotropin-releasing hormon-I (GnRH-I) és az aromatáz enzim (ARO) expressziójának vizsgálata immuncitokémiai módszerrel 34
3.6.1.1. Kvantitatív képelemzés 35

3.7. A magatartás vizsgálatok 36

3.8. Adatok feldolgozása 36

4. EREDMÉNYEK 37

4. 1. A szaporodást befolyásoló klimatikus tényezők és azok éves alakulása 37

4. 2. A kísérleti állatok általános kondíciója 37

4.3. A GnRH expressziójának szezonális változása 38
4.3.1. A GnRH-I-ir sejtek és rostok szezonális változása a POA-ban 39
4.3.2. A GnRH-I-ir rostok szezonális változása az EM-ban 40

4.4. A here morfológiai változásai 41
4.4.1. A here térfogata 42
4.4.2. A tunica albuginea vastagsága 42
4.4.3. Az interstitium vastagsága 44
4.4.4. A heretubulusok keresztmetszetének területe 45
4.4.5. A germinális epithelium vastagsága 46
4.4.6. Sejttípusok meghatározása és kvantifikálása 46

4.5 A mellékvese morfológiai és morfometriai változásai 47
4.5.1. A mellékvese interrenalis és adrenalis hányadosának vizsgálata 48
4.5.2. Az interrenalis állomány 3 zóna sejtmagméretének a vizsgálata 48

4.6. A hormonok szezonális változásai 50
4.6.1. A tesztoszteron szezonális változása 51
4.6.2. A DHEA szezonális változása 51
4.6.3. A B szezonális változása 52

4.7. ARO aktivitás 53
4.7.1. Az ARO-ir sejtek szezonális változása a POA/POM-ban 53

4.8. Udvarlási magatartás 55

4.8.1. Ének 55
4.8.2. Szárnymozgatás 57

5. KÖVETKEZTETÉSEK és JAVASLATOK 59

5.1. A klimatikus tényezők szerepe a seregély szaporodási ciklusának szabályozásában 59
5.1.1. A nappalok hossza és a szaporodás összefüggései 59
5.1.2. A hőmérséklet és a szaporodás összefüggései 60
5.1.3. A csapadékmennyiség és a szaporodás összefüggései 60

5.2. A seregélyek általános kondíciójának szezonális alakulása 61

5.3. A GnRH expressziójának szezonális változása 62

5.4. A seregély here morfológiájának és funkciójának szezonális változása 64

5.5. A seregély mellékvese morfológiájának és funkciójának szezonális változása 68

5.6. A szezonálisan változó androgének aromatizációja az agyban 72

5.7. A hím seregély udvarlásának mintázata és énekének szezonális változása 73

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK 75
7. ÖSSZEFOGLALÁS 77
8. SUMMARY 81
9. MELLÉKLETEK 85
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 109

Rövidítések

3V:	III.-ik agykamra
AA:	aromatáz aktivitás
ANOVA:	variancia-analízis
AR:	androgén receptor
ARO:	aromatáz
ARO-ir	immunreaktív ARO sejt
B:	kortikoszteron
BSTm:	medialis bed nucleus of stria terminalis
CA:	commissura anterior
CBP:	corticosterone binding protein
DHEA:	dehidroepiandroszteron
E2:	ösztrogén
EM:	eminentia mediana
ER:	ösztrogén receptor
FSH:	folliculus-stimuláló hormon
GnIH:	gonadotropin-inhibiting hormon
GnRH:	gonadotropin-releasing hormon
GnRH-I-ir	immunreaktív GnRH-I sejt
HE:	hematoxilin-eozin
HHG:	hypothalamus-hypophysis-gonád tengely
HVC:	high vocal center (ének központ)
KPBS:	kálium-foszfát pufferoldat
LH:	luteinizáló hormon
mPOA:	medialis preopticus a
POA:	preoptikus area
POM:	nuclus preopticus medialis
RIA:	radioimmunoassay
T:	tesztoszteron
TrSM:	tractus septomesencephalicus
VMH:	nucleus hypothalamicus ventromedialis
ZF:	zona fasciculata
ZG:	zona glomerulosa
ZR:	zona reticularis

1. BEVEZETÉS és CÉLKITŰZÉS

„…Mozdulataik nyugtalanok, frissek; a földön ügyesen szaladgálnak, közbe-közbe a disznók, juhok hátára szállnak s rajtuk valami élősködőt keresgélnek. Tartásuk hetyke, egész külsejök elárúlja, hogy tehetséges, eszes, fortélyos állatok…"

(Chernel 1899)

„A mig a magyar földet gulya, ménes, nyáj legelve járja, védeni kell a seregélyt."

(Herman 1901)

A madarak a szaporodási stratégiák széles skáláját alkalmazzák, ami lehetővé teszi számukra, hogy különböző környezetben és eltérő körülmények között sikeresen szaporodjanak. A szaporodás endokrin és magatartási alkotóelemeinek fő szabályzója a hypothalamus, amely a környezeti hatásokat – elsősorban a nappalok hosszát - hangolja össze a belső biológiai órával. A madarak szaporodási időszaka az emlősökéhez képest általában rövidebb és inkább asszimetrikus. Egyes fajoknál a szaporodási időszak minden évben azonos, míg más fajoknál (opportunisták) – táplálékforrástól függően - különböző időszakban történik. Az előbbiek szaporodási időszakának kezdete és vége előre megjósolható, és ezt elsősorban a fénytartam határozza meg, míg az utóbbinál a fénytartam kisebb jelentőségű.

A tavaszi növekvő fénytartam serkenti a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) release-t és az abból következő gonadális érést. A gonádok szex szteroidokat temelnek, amelyek befolyásolják az állatok viselkedését és meghatározzák azok másodlagos ivari jellegét. Ezt a jelenséget már több mint 150 évvel ezelőtt felismerték. Arnold A. Berthold (Berthold 1849) egy rendkívűl frappáns és szemléletes kísérlet során eltávolította a kakasok heréjét, s észrevette, hogy csökkent azok agresszív viselkedése, valamint a tarajuk mérete. Amikor visszaültette a heréket a kappanokba, visszaállt az eredeti állapot. Ma viszont már tudjuk, hogy szex szteroidokat nem csak a gonádok, hanem a mellékvese és valószínűleg az agy is képesek előállítani.

A magas szex szteroid koncentráció tehát létfontosságú a szaporodási időszakban. Tavasszal, a gonádok működését serkentő magas fénytartam, a nyár közepén a legtöbb mérsékelt égövi madárban viszont már gátlólag hat. Ezt a folyamatot egy nagy mértékű hypothalamikus GnRH mennyiség csökkenése jellemzi (Dawson et al. 1985), amit a gonádok – egyes fajokban a mellékvese kerégállományának (Bhattacharyya, Ghosh 1965, Riddle 1923) – atrófiája követ. Végül a szex szteroidok visszaállnak az alapszintre. A madarak nyugalmi fázisba, azaz fotorefrakteritásba kerülnek és az esetek többségében ekkor történik meg a vedlés is (Goldsmith, Nicholls 1984). A növekvő nappalok hossza tehát kettős szerepű, először serkentő majd később gátló hatású.

Egyes madárfajokban a kora őszi időszakban egy „részleges szexuális” reaktiváció figyelhető meg. A fokozottan agresszív és/vagy udvarló magatartást a továbbra is atretizált here és alacsony tesztoszteron (T) plazmaszint jellemzi, viszont egy másik androgén, a mellékvese által is termelt dehidroepiandroszteron (DHEA) és bizonyos esetekben az ugyancsak mellékvese eredetű kortikoszteron (B) koncentrációja ebben az időszakban megnő (Dawson, Howe 1983, Soma et al. 2002). A vérben keringő androgének kis molekulák és így könnyen átjutnak a vér-agy gáton és az olyan fontos magatartást szabályozó központokba jutnak, mint pl. a hypotalamikus preoptikus area (POA) (s ezen belül a nucleus preopticus medialis (POM)) vagy a telencephalikus, éneklést szabályozó magok. Úgy tűnik, hogy ezek a hormonok itt elsősorban nem „eredeti” állapotukban, hanem aromatizáció után ösztrogénneké alakulva befolyásolják a madarak magatartását.

A madarak szaporodását zömében házi madárfajokon vagy befogott, fogságban tartott állatokon tanulmányozzák. A fogság okozta trauma, a ketrecek mérete, a fészkek/odúk és a fajtársak jelenléte vagy hiánya, a nem mindig megfelelő minőségű táplálék, valamint sokszor az ökológiai faktorok (természetes fény, hőmérséklet, pára stb.) hiánya oda vezetett, hogy a laboratóriumi vizsgálatok eredményei néha eltértek vagy akár teljesen ellenkező eredményre vezettek, mint a szabad/vad körülmények között végzett vizsgálatok (Calisi, Bentley 2009, Kern 1979, Lambrechts et al. 1999).

Doktori disszertációmban, vadon élő hím seregélyek *(Sturnus vulgaris)* szaporodásának neuroendokrin szabályozását vizsgáltam. A seregély, a mérsékelt és hideg égöv elterjedt énekesmadara, mely szaporodására a szezonalitás jellemző, azaz mind a fiziológiáját, mind a viselkedését az évszakok váltakozása, s ezen belűl elsősorban a nappalok hosszának éves ciklusa szabályozza. Ezen tulajdonsága valamint viszonylag kis mérete miatt népszerű fajnak számít a madár endokrinológusok táborában. Meglehetősen sok publikáció jelent meg e témában a seregélyről, de ezek zöme befogott, vagy fogságban tenyésztett madarakra vonatkozik (Dawson, Goldsmith 1997, Foster et al. 1987, Parry et al. 1997, Riters et al. 2000, Stevenson, Ball 2009, Ubuka et al. 2008a).

Célkitűzések

Kutatásom fő célja a madarak szaporodásának szezonális szabályozásának a bemutatása volt vadon élő hím seregélyeken. Vizsgálataimban a kérdéskör szélesebb spektrumát igyekeztem áttekinteni; a GnRH expressziótól, a plazma szteroidjain keresztül a viselkedés különböző aspektusáig, különös tekintettel a szaporodási időszak egyes szakaszaira, valamint a fotorefrakter periódusra. Ennek keretében az alábbi főbb rész-célkitűzéseim voltak:

- Megvizsgálni immuncitokémiai módszerrel a preopticus area (POA), és az eminentia mediana (EM) szezonális GnRH-I expresszióját
- Leírni a here és a mellékvese morfológiai jellemzőit, s elvégezni azok morfometriai elemzését az éves ciklus folyamán.
- Meghatározni a fiziológiai szempontból fontos két androgén (T, DHEA) valamint a B plazmakoncentrációját és azok korrelációját a here és a mellékvese szövettani adataival, különös tekintettel a késő nyári szexuálisan inaktív időszakra.
- Az agy T → ösztrogén (E2) átalakítását szabályozó aromatáz (ARO) enzim kvantifikálása a POA/POM területen.
- A hím seregélyek udvarló magatartásában (dürgés) kulcsfontosságú szerepet játszó éneklés paramétereinek vizsgálata, valamint a „násztánc” elemzése.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A seregély jellemzése

A seregély a *(Sturnus vulgaris)* a madarak osztályának énekesmadár-alakúak (Passeriformes) rendjébe és a seregélyfélék (Sturnidae) családjába tartozó faj. Világszerte elterjedt, de valójában eurázsiai eredetű. Észak-Amerika, Dél-Afrika, Argentína, Ausztrália, Új-Zéland területére betelepítették. Az Egyesült Államokba még a XIX. századba telepítették be, ahol kiválóan meghonosodott és a száma manapság elérte a 150-200 milliót (Feare 1984).

Magyarországon rendszeres fészkelő. Februártól novemberig tartozkódik itt, néha áttelel (Gergely et al. 2000). Több alfaja ismert, hazánkban az Európától Uralig honos *Sturnus vulgaris vulgaris* az alapfaj.

Hossza 203-215 mm, szárnyai fesztávolsága 122-137 mm, tömege 74-90 gramm. Az öregek tavaszi nászruhája fekete, zöldes és bíboros ércfényű színnel (Kelemen 1978). A nyári időszakban, amikor már a fiókák kirepültek a fészekből a felnőtt madarak átesnek a postnuptialis, azaz költés utáni vedlésen. Tollazatuk ekkor pöttyössé válik. A fehér tollvég idővel lekopik és a következő év tavaszán fekete nászruhává alakul (Molnár 1998). Kirepüléskor a fiatalok tollazata még barnás-szürke. A nyári vedlés során a juvenilis tollruházatot fokozatosan lecserélik; a vedlés iránya caudo-craniális. Utoljára a szem mögötti, fül régióban történik meg a vedlés. A folyamat végén a fiatalok szinte azonos kinézetűek az adultakkal – azaz fekete alapon fehér pöttyösek -, csak a toroktollak rövidebbek és a fehér szegélyük is kevésbé feltűnő a felnőttekhez képest (Kessel 1951).

Főként rovarokat és bogyókat eszik. Nagy tömegekben és főleg kora ősszel komoly károkat okozhat gyümölcstermesztőknek és a szőlősgazdáknak. Védekezni ellene az ültetvények őrzésével és a madarak folyamos ijesztgetésével lehet, illetve érés idején a szőlősorok védőhálóval való letakarásával. Magyarországon nem védett. Populáció nagyságát (710000-990000) illetően nincs jelentősebb változás a 1990-2000 adatok szerint, azaz az állomány stabilnak tekinthető (MME-Birdlife-Hungary).

A seregélyek életformáját, de különösen a szaporodását a szezonalitás határozza meg. Magyarországra a téli pihenőhelyeikről már kora tavasszal, február végén, március elején érkeznek (Chernel 1899). A hímek ilyenkor hamar elfoglalják a kiszemelt odút és elkezdik azt felújítani valamint különböző növényekkel kibélelni. Ez idő alatt gyakran énekelnek és különböző szárnymozdulatok kiséretében násztáncot járnak, különösen, ha a tojók is a közelben tartózkodnak. Seregélynél a tojók is énekelnek, de sokkal ritkábban és inkább a szaporodási időszakon kívűl (Henry, Hausberger 2001). Amikor a tojó elfogadja a hímet, megtörténik a kopuláció és ezután együtt fejezik be az odú kitakarítását és a fészkelő anyag behordását. A fészeképítés 4-5 napot vesz

igénybe, de akár folytatódhat az inkubálás alatt is. A hímek gyakran erős illatú gyógynövényeket is hoznak az odúba, hogy elriasszák a vérszívó parazitákat. A seregélyek elsősorban monogámok, de gyakran előfordul poligámia is. Ilyenkor a hím a már meglévő fészekalj után másik – nem túl messze lévő – odút keres és újabb családot alapít.

A nőstények a kopulációt követően naponta raknak le egy tojást. Ha a tojásrakás korai fázisában megsérül vagy eltűnik egy tojás azt a nőstény pótolja. A tojások száma általában 4-6 fészekaljként, eliptikus formájúak, a felszínűk sima fényes és kék színűek. Az inkubáció két hetet igényel, továbbá az utolsó lerakott tojás akár 24h-val is később kelhet ki mint az első. A költést mindkét szülő végzi, de a tojók több időtt töltenek a fészekben, miközben az est leszálltával a hímek otthagyják az odúkat és a csoportos pihenőhelyeken töltik éjszakájukat. A kikelt fiókák vakok és teljesen csupaszak, de egy hét után már jelentős testtömeggel rendelkeznek, valamint 9 naposan nyílik ki a szemük. Három hetet tartózkodnak a fészekben, mialatt mindkét szülő folyamatosan és felváltva táplálja azokat. Miután elhagyták a fészküket, a szülők még 1-2 hétig etetik őket és vigyáznak rájuk. Ez idő alatt rengeteg mennyiségű rovart fogyasztanak el. Magyarországon a seregélyek kb. 60%-a másodszor is költ, de a világ egyes helyein akár 3 fészekaljat is felnevelnek egy szaporodási idény alatt. Az egymást követő költések ugyanabban az odúban történnek. A kirepült fiókák kb. 2 hónap alatt átvedlenek juvenilis tollruházatra, de a felnőttkori – adult – tollruhát csak a következő évben öltik magukra. A hímek 2 évesen állnak párba (Eens 1997, Molnár 1998)

2.2. A szaporodás szezonalitása

A madarak többségénél, az éves ciklust két teljesen eltérő szaporodásbiológiai állapot jellemez: a (i.) *fotoszenzitiv periódus*, melynek során a madarak azonnal képesek reagálni a hosszabb megvilágításra, valamint a (ii.) *fotorefrakteritá*s, amikor a madarak nem reagálnak a fotoperiódus megnyújtására. Tavasszal, amikor a növekvő nappalok hossza átlépi a fajra jellemző kritikus értéket, azaz a fotoszenzitív madarakat fotostimuláció éri, kezdetét veszi a szaporodási időszak. A madáragyban a fény, receptorok (retina, mély fotoreceptorok, tobozmirigy) útján történt érzékelését követően, a fotoperiodikus információ a mediobasalis helyezkedésű fotoperiodikus órához (metronom, pacemaker, Zeitgeber központ) kerül, melyet a „clock gének” alkotnak. A madár clock gének expressziója stabil a különböző fénytartamok alatt és az aktuális megvilágítás tartam által szinkronizálva, információkat szolgáltat a nappalhossz alakulásáról. Ezt a jelenséget a külső egybeesési (koincidencia-) elve modellezi. Arról van tehát szó, hogy amikor a megvilágítás időtartama és a madarak fényérzékeny periódusa között maximális egybeesés (koincidencia) jön létre, a fotogonadostimuláció akkor bizonyul a leghatásosabbnak. A leírtakból arra

következtethetünk, hogy a maximális egybeesés a hosszú nappalok idején a legvalószínűbb (Farner 1980, Péczely 1987).

Az ezt követő fotorefrakter állapot beállta a szaporodási periódus végét jelzi (Dawson 2008). Különböző nézetek alakultak ki a madár biológiáját illetően, hogy miért van szükség a fotorefrakter állapotra. A madárfajok zöme repül és különösen a vándorlóknál nagy előnyt jelent, ha minimalizálni képesek az ivamirigyeik súlyát, amikor azokra nincs szükség. Ez választ adhat arra, hogy a madár gonád mérete miért csökken le annyira drasztikusan a szaporodási időszakon kívűl, az emlősökéhez képest a (Dawson, Sharp 2007). Például a seregély here súlya akár 200-szorosan is lecsökken (Dawson et al. 2002), miközben a Soay birkánál (Lincoln, Short 1980) vagy a szíriai hörcsögnél (Urbanski et al. 1993) ez a változás mindössze 3-szoros. Egy másik hipotézis a fotorefrakteritás kialakulására a jó tollazat szükségessége, amely éves szinten legalább egy cserét igényel. A vedlés, hasonlóan a szaporodáshoz, nagy energia igényű, ezért arra az időpontra irányul, amikor bőséges a táplálékkínálat, viszont biológiailag nem lenne célszerű, ha a két jelenség egy időben zajlana. Ezért a szaporodási időszak időpontjának a kezdete és még inkább a végének a meghatározása kulcsfontosságú kérdés a madarak életében.

A mérsékelt és a hideg övi madarak szaporodására jellemző a határozott szezonalitás, mely arra irányul, hogy az utódok megszületése a legkedvezőbb időszakra essék, s azok túlélési esélye a lehető legnagyobb legyen. Bizonyos fajok rövid szaporodási időszakkal rendelkeznek, amely akkor ér véget, amikor még hosszúak a nappalok. Más fajokra a hosszabb reproduktív periódus jellemző, amely az őszi, már csökkenő nappalok idején ér véget. Végül léteznek az opportunisták, amelyek olyan körülmények mellett nevelik fel fiókáikat, ahol a táplálékforrás megléte kiszámíthatatlan (Hahn et al. 2005). A madarak reproduktív fiziológiája ezekhez a feltételekhez alkalmazkodott, habár léteznek átmenetek a felsorolt típusok között. A rövid szaporodási időszakkal rendelkező fajoknál abszolút fotorefrakteritás alakul ki; a gonádok spontán visszafejlődnek még a hosszú nappalok idején, s ezek után a további növekvő fotoperiódus már nem hat rájuk serkentőleg (Phillmore et al. 2005). Azok a fajok, amelyek szaporodási időszaka hosszan elnyúlik, relatív fotorefrakter állapotba kerülnek, esetükben csak a csökkenő nappalhossz idézi elő a gonádok regresszióját (Robinson, Follett 1982). Az opportunista fészkelők olyan stratégiával rendelkeznek, amely lehetővé teszi számukra az ivarmirigyek hirtelen fejlődését az év szinte bármely időszakában, viszont azok méretbeli változásai kevésbé drasztikusak az előzőekhez képest (Deviche, Sharp 2001).

Az egész éves ciklust befolyásoló fotoperiodikus tényezők mellett léteznek ún. nem-fotoperiodikus jellegű faktorok (pl. táplálék mennyisége/minősége, hőmérséklet, nedvesség, szociális interakciók). Ennek a jelentősége az abszolút fotorefrakter madaraknál csak másodlagos, viszont kulcsfontosságú az opportunistáknál (Wingfield et al. 1992a). Ennek ellenére még a szélsőségesen opportunista

fajok, mint pl. a zebra pintyek vagy a keresztcsőrűek is megtartották bizonyos mértékben a változó nappalhosszra adott fiziológiai reakciójukat (Bentley et al. 2000, Hahn 1995).

2.3. A szaporodás neuroendokrin háttere

Az ivarmirigyek fejlődésében, azok szabályozásában a legfontosabb központi szerepet a gonadotropin-releasing hormon, azaz a GnRH játsza. Ez a hormon stimulálja az adenohipofízis két gonadotropinjának (LH, FSH) termelődését és szekrécióját, amelyek a véraramba kerülve eljutnak az ivarmirigyekig, ahol serkentik azok hormontermelését.

A GnRH egy dekapeptid, melynek struktúrája filogenetikailag erősen konzervatív, különösen a N- és a C-terminális végei (Fernald, White 1999). A GnRH gén kódolt preprohormon precursor megfelelő hasítás és csomagolás után válik aktív peptiddé. A folyamat első lépéseként az ugyancsak inaktív prohormon keletkezik peptidázok hatására. A vezikulumokba csomagolt prohormont proteolitikus enzimek hasítják tovább s végeredményként létrejön az aktív hormon és egyéb fragmentumok (Hofmann 2006).

Mostanáig a GnRH-nak három, míg receptorának kettő (Shimizu, Bedecarrats 2006, Sun et al. 2001) típusát határozták meg madárban. Míg a GnRH-R1 a periférián (here, lép,szív) és kisebb mennyiségben a hipofízisben található meg (Sun et al. 2001), addig a receptor másik izoformája (GnRH-R2) elsősorban a hipofízisben mutatható ki (Joseph et al. 2009). Úgy tűnik az utóbbi lehet a felelős a reproduktív tengely szabályozásáért, ugyanis anatómiai helyzete, valamint expressziója és a madár szaporodásbiológiai állapota közötti pozitív korrelációja ezt támasztja alá (McFarlane et al. 2011). A házityúk volt az első gerinces, amelyben a GnRH két (cGnRH-I és cGnRH-II) formájának nukleotidsorrendjét sikerült először meghatározni (King, Millar 1982, Miyamoto et al. 1984). A GnRH-III-t először ingolában írták le, viszont később már a madáragyban is sikerült kimutatni (Bentley et al. 2004). A három GnRH típus eltérést mutat azok szerkezeti felépítésében, anatómiai eloszlásában valamint funkciójában.

A dekapeptid első négy valamint az utolsó kettő aminosava azonos mindhárom típusban, az eltérések az 5-8 közötti helyeken figyelhetők meg. Elterjedését tekintve a GnRH-I sejttestek zöme a preopticus areaban (POA) található, rostjaik a III. agykamra mentén futnak és az eminentia mediana-ba (EM) végződnek. A portális vérkeringésen keresztül az adenohypophysisbe jutva serkenti a gonadotropinok termelődéséstés szekrécióját (Bentley et al. 2004). A GnRH-II neuronok elsősorban a középagyban (mesencephalon) és a köztiagyban (diencephalon) figyelhetők meg (Millam et al. 1993). Rostjai megtalálhatóak többek között a EM-ban, a gonadotropinok szabályozásában betöltött szerepük viszont nem egyértelmű (Meddle et al. 2006, Millam et al. 1998). Ugyanakkor, centrálisan adagolva fokozta a tojók reproduktív viselkedését (Maney et al.

1997). A GnRH-III neuronok a nagyagy (telencephalon) különböző területein találhatóak meg, különösképpen a hippocampusban és az ének központban. Rostjai elsősorban a hypothalamus és az EM felé proiciálnak. Bentley és mtsai. (2004) szerint a GnRH-III, mint lehetséges mediátor továbbíthatja az ének központból jövő információkat a gonadotropin szabályozó területek felé.

A madár GnRH termelődését alapvetően három egymástól független rendszer befolyásolja; (i) a GnRH neuronokkal közvetlen szinapszist képező opszin tartalmú encephalikus fotoreceptorok által (Saldanha et al. 2001), (ii) a szex szteroidok negatív-feedback hatása által (Deviche et al. 2006), (iii) valamint a gonadotropin-inhibiting hormon (GnIH) amellett, hogy hypophysis szintjén képes gátolni a gonadotropinok szekrécióját, a rostjai szinapszisokat képeznek a GnRH neuronokkal, de kifejthetik hatásukat a GnRH-I, II neuronok GnIH receptorain keresztül is (Tsutsui et al. 2000, Ubuka et al. 2008b).

A madár GnRH bekerülését a portális vérkeringésbe alapvetően két mechanizmus szabályozza. Az egyik működése speciális gliasejtek segítségével történik, amelyek eltérő hatású deiodináz enzimek aktiválásával mozgósítja a „glia talpak" kiterjedését a GnRH axonok terminális részein, s ezáltal lehetőség nyílik a GnRH portális erekbe juttatására, vagy annak gátlására (Yasuo et al. 2005, Yoshimura et al. 2003). A másik mechanizmus főszereplői a neurotranszmitterek. Míg a norepinefrin, az epinefrin és a szerotonin stimulálják, a dopamin ezzel ellentétben gátolja a GnRH release-t (Contijoch et al. 1992, Kim et al. 2006, Péczely 1987).

Mindhárom GnRH típus képes serkenteni a gonadotropinok szekrécióját, ezt viszont eltérő mértékben (Proudman et al. 2006). Mindenesetre, úgy tűnik a mostani álláspont szerint, hogy a GnRH-I a legfontosabb hypophysiotrop – elsősorban LH – releasing-factor, ugyanis a cGnRH-I elleni aktív immunizálás csökkentette a plazma LH koncentrációját és egyben a gonádok visszafejlődését okozta csirkében. A cGnRH-II elleni immunizálás nem okozott LH változást (Sharp et al. 1990). Másrészt viszont, a szezonálisan változó cGnRH-II immunreaktivitás arra utalhat, hogy a molekula szerepet játszhat a szaporodási folyamatokban (Stevenson, Macdougall-Shackleton 2005).

2.4. A madár here leírása

Madaraknál a herék (testes) – ellentétben az emlősökkel – abdominálisan, a vesék elülső lebenyén, illetve a mellékvesén helyezkednek el. Bab alakú vagy tojásdad, szervek, amelyeknek mérete valamint szöveti szerkezete a legtöbb madáron szezonálisan változik. A herék medialis szélét savóshártya-kettőzet fűzi a dorsalis hasfalhoz. A heréhez dorsomediális irányban a mellékhere (epididymis) csatlakozik, amely ductus defferentes-be folytatódik ami végül a kloakába nyílik. Az emlősökkel homológ vagy analóg járulékos ivarmirigyek a madarakban nem ismertek (Aire 2006a).

A heréket mind craniálisan mind caudálisan a mellkasi és a hasi légzsákok veszik körül, de ellentétben Cowles és Nordstrom állításával (1946) a légzsákok valószínűleg nem játszanak szerepet a herék hőmérsékletének szabályozásában. Ugyanis, vizsgálatok csirkéken azt mutatták, hogy a zsigerek és a herék felszínén a hőmérséklet azonos (Williams 1958). A szexuálisan aktív madarak heréje csaknem fehér színű, de előfordulhat szürke vagy fehér alapon szürke foltos, vagy a melanoblasztokban lévő nagy mennyiségű melanin pigmenteknek köszönhetően akár szürkésfekete/palaszürke is. A szexuálisan inaktív madarak heréje kisebb, továbbá sötétebb színű, gyakran fekete (Aire 2006a).

2.4.1. A herék aszimmetriája és mérete

Madarakban a bal és a jobb here szimetrikusan helyezkedik el a mediális sík két oldalán, azonban méretükben gyakran különböznek egymástól. Az esetek többségében a bal here nagyobb mint a jobb oldali. Friedmann (1927) 169 madárnemet vizsgált és azt találta, hogy a jobb here egy genusban sem volt nagyobb a balnál, de 104 genusban mindkét oldali here azonos méretű volt, továbbá 60 genusban a bal oldali here bizonyult nagyobbnak. Az eltérő hereméret oka nem ismert, viszont úgy tűnik, hogy funkcióban a bal és a jobboldali szerv egyenértékű. Emuban *(Dromaius novaehollandiae)* a bal herét találták nagyobbnak, ennek ellenére a két szerv azonos mennyiségű androgént termelt (Malecki et al. 1998).
Néhány domesztikált tyúkféle (Galliformes), valamint a trópusi fajok kivételével, a madarak heremérete jelentős mértékben változik az éves ciklus folyamán. Szaporodási periódusban megnövekednek, továbbá a színűk is világosabbá válik a szexuálisan inaktív heréhez képest. A herék szezonális tömeg- és térfogat-növekedése, majd regressziója igen gyorsan, sokszor egy-két héten belül zajlik le (Péczely 2002). Ez a méretváltozás egyes szezonálisan szaporodó énekesmadarakban akár 400-500×-os is lehet. Møller (1991) 247 madarfajt, 152 nemet, 37 családot valamint 16 rendet vizsgált és azt találta, hogy a szaporodási időszakban a herék mérete pozitívan korrelál a spermiumok termelésével.

2.4.2. A here felépítése és szerkezete

2.4.2.1. A heretok

A savós hártya alatt kötőszövetes tok borítja a herét, melyről szabálytalan kötegek nyomulnak állományába. Madarakban a heretok igen vékony. A here és a mellékhere találkozásánál viszont a tok jóval vastagabb, akár többszöröse is lehet az előző átlagoknál (Aire 2006a).

A tok szövettanilag 3 rétegből épül fel: kívül a tunica serosa található, amely a peritoneum származéka, ezt követi a legvastagabb réteg, a tunica albuginea, és legbelül a tunica vasculosa helyezkedik el (Aire, Ozegbe 2007). A serosa és a vasculosa rendkívül vékonyak, a tok legnagyobb hányadát az albuginea képezi. Az utóbbit kollagén elasztikus rostok és nagy mennyiségű fibroblasztok jellemzik, amelyek között szabad szemmel is látható vérerek futnak. A tok funkcióját illetően különböző feltevések léteznek. Davis és munkatársai (1970) kimutatták, hogy emlősöknél a heretokban lévő izomsejtek elősegítik a spermatozoák áramlását a mellékhere felé. Egy másik megfigyelés szerint a heretok kontrakcióval képes válaszolni a különböző kémiai és elektromos ingerekre (Banks et al. 2006). Van Nassauw és munkatársai (1993) – japán fürjeket *(Coturnix japonica)* vizsgálva - izomsejteket találtak a tunica albuginea-ban. Ezeket figyelembe véve feltételezhetjük hogy a heretok szerepe a here védelme és tápanyagellátása mellett az, hogy kontrakciójával elősegítse a spermiumok áramlását a mellékhere irányában.

A szezonálisan szaporodó madaraknál a heretok, de elsősorban a tunica albuginea mérete szezonális változást mutat, azaz tavasszal, a szaporodási időszakban vékonyabb az őszi valamint a téli időszakhoz képest (Baraldi-Artoni et al. 2007). Ez a jelenség annak köszönhető, hogy a szaporodási ciklust követő regressziós fázisban a herét borító „régi" tunica albuginea alatt új kötőszöveti tok alakul ki, amely a szexuális reaktiváció során a régivel egyesülve, annak vastagságát növeli. Így a heretok vastagsága jelzi, hogy a madár első szaporodási periódusában van-e, vagy pedig már többször szaporodott (Péczely 1987).

2.4.2.2. A kanyarulatos csatornák

A here állományának legnagyobb hányadát a kanyarulatos csatornák (tubuli seminiferi) alkotják, melyekben a spermiumok fejlődnek. A sejtek innen kis vezetékeken keresztül a mellékherébe jutnak, ahol – ellentétben az emlősökkel – csak rövid ideig tartózkodnak, s ezalatt fejeződik be az érésük (Clulow, Jones 1982). A herecsatornácskák falát kívülről basalis lamina és az ezt övező vékony lazarostos kötőszövet képezi. A csatornákban alapvetően 2 sejttípus figyelhető meg; a Sertoli sejtek valamint a spermatogenetikus sejtek (Péczely 1987).

A Sertoli sejtek alapi részük szorosan ráfekszik a basalis laminára, míg apicalis része benyúlik a csatornácskák lumenébe. Elsődleges szerepük a spermatogenezis normális lefolyásának biztosítása, de fagocitaként is működnek (Breucker 1978). Az aktiválódásuk az FSH által történik (Brown et al. 1975).

A spermatogenetikus sejtek első nemzedékét a spermatogoniumok képviselik. A spermatogóniumok morfológiailag két elkülönülő populációja különböztethető meg. Az A típusú sejtek nagyobb felülettel kapcsolódnak az alaphártyához és bazálisabban helyezkednek el a B típusú sejtekhez

képest. Az A típusú spermatogóniumok nagyobbak, s aktiválódás során intenzív mitotikus osztódásba kezdenek, melynek eredményeként további A típusú vagy kisebb B típusú sejteket hoznak létre. Az ontogenézis valamint az éves ciklus során a spermatogóniumok több osztódási fázis után differenciálódnak spermiumokká. Első lépésként a B sejtek tovább mitotikusan osztódva, elsőrendű spermatocitákat hoznak létre (Péczely 1987).

Az aktív herében a csatornácskák lumene felé haladva a következő „sejtréteget" az elsőrendű spermatociták alkotják, amelyek a csirahám legnagyobb sejtjei. Egymással és a basalis laminával általában nincsenek kapcsolatban. A meiozis során minden elsődleges spermatocitából két másodlagos spermatocita keletkezik. Ez utóbbiak kisebb méretű sejtek és haploidok, azaz magvukban fele annyi kromoszóma található a redukciós osztódás eredményeként. Az elsőrendű spermatociták felett, ritkán közöttük helyezkednek el. A másodrendű spermatociták rövid élettartamúak, mitotikusan továbbosztódva létrehozzák a spermatidákat (Péczely 1987).

A spermatogenezis végső fázisában keletkező spermatidák a másodrendű spermatocitáknál valamivel kisebb méretűek és a Sertoli sejtek apicalis részén találhatóak. A kezdetben gömbölyű spermatidák formai átalakuláson esnek át, melynek során megnyúlnak és kialakulnak spermiumok Ezt a folyamatot nevezzük spermiogenezisnek vagy spermateliozisnak (Aire 2006b).

2.4.2.3. Az interstitium

Az interstitium a here (különösen a szexuálisan aktív állapotú madáré) kis hányadát teszi ki. A herecsatornák között vékony réteget képez és leginkább a 3 csatorna alkotta szögletes áreában figyelhető meg. Az interstitiumban egyenként vagy szórványosan figyelhetőek meg a Leydig sejtek, továbbá a vérerek és a fibroblasztok, valamint a makrofág rendszer különböző sejtjei, mint pl. a makrofágok, limfociták és a monociták (Aire 2006a). A here aktiválódása során, az interstitium proliferációja kevésbé szembetűnő, mint a kanyarulatos csatornáké. Az előbbi ilyenkor még össze is préselődik az erősen táguló csatornácskák hatására (Aire 2006b).

Szaporodásbiológiai szempontból az interstitium egyik legjelentősebb képlete a Leydig sejt. Ezek a sejtek felelősek a szaporodási fázisban jelentős mennyiségben keletkező androgének – elsősorban tesztoszteron – termelődéséért. A Leydig sejtek citomorfogenézise során a citoplazma mérete megnövekedik, a sima endoplazmatikus retikulum pedig egyre nagyobb arányban lesz jelen a szemcsés endoplazmatikus retikulumhoz képest. Kisebb-nagyobb lipidcseppek jelennek meg ezekben a sejtekben, továbbá a 3β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz és a 17β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz enzimek jelenléte jelzi az erős szteroidogenetikus aktivitást (Péczely 1987).

A Leydig sejtek LH stimulusra megnagyobbodnak, amelyet jelentős tesztoszteron szekréció kísér. FSH kezelésre ezek a változások nem történtek meg, ami arra utal, hogy az androgének szekrécióját

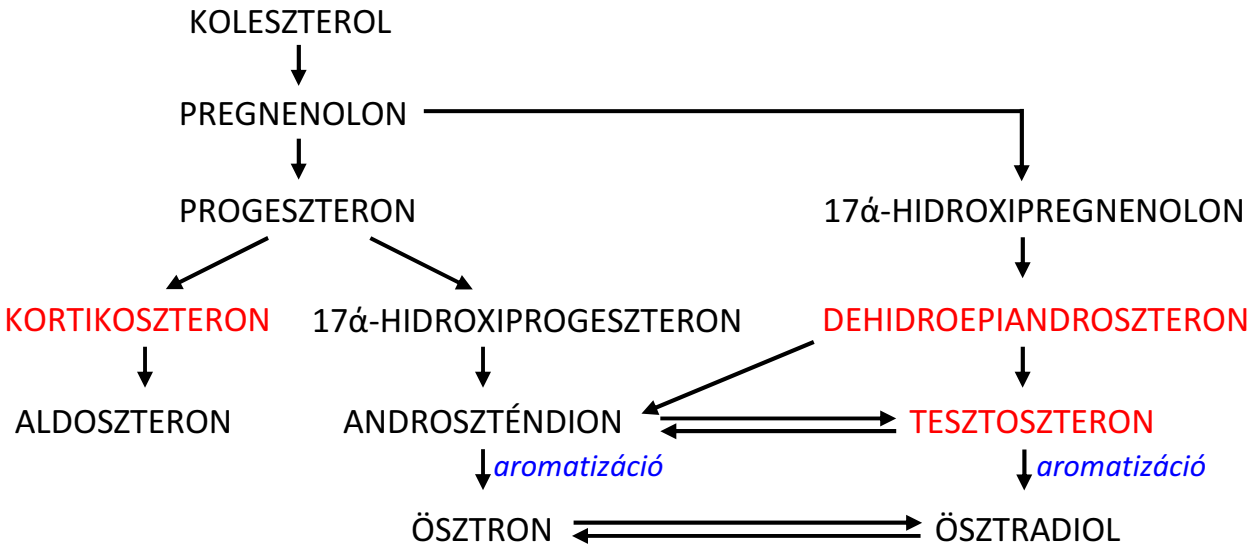
az LH elválasztás szabályozza, ugyanis ezek a sejtek specifikus LH receptorokat tartalmaznak (Brown et al.1975).

2.4.3. A herefunkció évszakos változása

Az ivarérett madár heréje androgéneket, ösztrogéneket és progesztagéneket termel (**1. ábra.**). Ezek a szex szteroidok a véráramba kerülve eltérő affinitással kapcsolódnak a transzportáló fehérjékhez és így a jutnak el a célterületekhez. Madarakban az androgéneket és az ösztrogéneket az albumin, a progeszteront és a B-t pedig a corticosterone binding protein (CBP) szállítja (Péczely 1987, Wingfield et al. 1984).

A fotostimuláció által kiváltott androgén - elsősorban T – koncentráció növekedése és a hereméret között pozitív korreláció figyelhető meg. A plazma T csúcsértéke széncinegénél *(Parus major)* egybevág a hímek agresszív, territoriális magatartásának tavaszi kialakulásával és maximumával (Van Duyse et al. 2003), valamint az ezt követő maximális spermium termelésnek az idejével (Penfold et al. 2000). A madarak a kopulációt majd a tojásrakást követően kotlásba kezdenek, amikor a – kotlásban és a tojó táplálásában résztvevő hím - T szintje folyamatosan csökken. Az utolsó fészekalj kirepülése után a madarak átesnek a költés utáni (postnuptialis) vedlésen, amikor a T minimum értéken van. A cinkéhez hasonlóan más madárfajokban, pl. seregély (Dawson 2006), házi lúd (Anser anser domestica) (Péczely et al. 2011), galléros túzok *(Chlamydotis undulata)* (Saint Jalme et al. 1996), koronás verébsármány *(Zonotrichia leucophrys)* (Wingfield, Farner 1978) is megfigyelték, hogy a szaporodási időszakot követő gonadális regresszió és alacsony T szint a vedlés kialakulásával párosul. A még hosszú nappalok ekkor tehát már negatívan befolyásolják a here funkcióját, ugyanis a szex szteroidok gátló visszacsatolásának, valamint a magasabb prolaktin, pajzsmirigy hormon és melatonin szintnek a hatására, a madarak fotorefrakter állapotba kerülnek, amit a csökkenő hereméret mellett az agresszió megszűnése jellemez (Ayre, Pang 1994, Connolly, Callard 1987, Dawson, Sharp 1998). Ebben az időpontban éri el a T az éves legalacsonyabb értéket. A T koncentrációja a következő szaporodási periódusig általában nem emelkedik, de bizonyos fajoknál előfordul, hogy a késő őszi, kora téli időszakban megnő a plazmaszintje. A téli sármánypintynél *(Junco hyemalis)* például a megnövekedett T koncentráció elősegíti a premigratorikus zsír depponálást (Tonra et al. 2011). A téli magas T szint a táplálékszerzéssel függ össze telelő fekete rigóknál *(Turdus merula)* (Schwabl et al. 1985).

A gonadális funkció és morfológia amplitudójának éves ingadozása sokkal drámaiabb a madarakban, mint a többi gerincesben. Az a jelenség, hogy az ivarszervek súlya akár a több százszorosra is lecsökken a vándorlás előtt, kétségtelenül megkönnyíti a madarak repülését.



1. ábra. A szteroid szintézis útvonala madarakkban. A pirossal jelölt szteroidok az általunk vizsgált hormonok.

2.5. A madár mellékvese leírása

A madár mellékvese (glandula suprarenalis) páros, legtöbbször kissé megnyúlt sárgásbarna szerv, amely a vese craniális pólusa felett, a gonádoktól dorso-medialisan fekszik. Hímekben az aktív here teljesen elfedi az alatta helyezkedő mellékvesét, viszont az inaktív here esetében láthatóvá válik. Tojókban a mellékvese még a szaporodási időszakon kívül is takarva marad a petefészek által. Zsírt tartalmazó kötőszövet tapad a mirigy dorsalis falához, ezáltal biztosítva a szerv stabil helyzetét (Hartman, Albertin 1951). A legtöbb madárfajban a két mellékvese elkülönülten helyezkedik el, de ennek ellenére a kettő közti rés a tág vagy szűk határvonal mértékkel jellemezhető. Ritkán a két szerv egyesített állapotban figyelhető meg, mint pl. az amerikai gólya *(Euxenura manguari)*, szula *(Sula variegata)* vagy a fehérfejű réti sas *(Haliaeëtus leucocephalus)* esetében (Hartman, Brownell 1949, Holmberg, Solar 1942).

A mellékvese alakja és színe nagymértékben különbözik a fajok között, de sokszor fajon belül is. Lehetnek tojásdadok, henger formájúak, de akár háromszögletűek is. Gyakran a két szerv eltér egymástól alakban. A színe leginkább sárga vagy narancssárga, néhány fajban akár barna vagy szürke is előfordulhat. A színét valószínűleg zsírtartalma és a zsírban előforduló színanyagok, valamint a chromaffin sejtek határozzák meg (Hartman, Albertin 1951).

2.5.1. A mellékvese szerkezete és felépítése

A szervet vastag kötőszöveti tok veszi körül, amely közrefogja közvetlenül a szerv szomszédságában helyezkedő vegetatív idegdúcokat, valamint az idegrostnyalábokat. A kötőszövettel együtt térnek a szervbe a vérerek, amelyek a sejtkötegek között sűrű hálózatot alkotnak, a funkcionális érterületet tág sinusoidok képviselik, amelyekhez a sejtek egyik végükkel hozzáfekszenek. A mellékvesét közvetlenül a vese cranialis artériája vagy ritkán az aorta látja el vérrel. Minden egyes szerv egy vénával rendelkezik, amely a posterior vena cava-ba torkol. Az interstitiumban előfordulnak még multipoláris idegsejtek egyesével, vagy néhány sejtből álló csoportokban, valamint lymphoid sejtek diffúz és gócos formában egyaránt (Carsia, Harvey 2000, Guzsal 1981).

Az emlősökkel ellentétben a madár mellékvese szövettani felépítésére jellemző, hogy a corticalis (interrenalis, kéreg) és medullaris (adrenalis, velő) állomány nem különül el, hanem egymás mellett, váltakozva helyezkednek el ugyanúgy, mint hüllőkben és kétéltűekben (Guzsal 1981, Kondics 1963).

2.5.1.1. A velőállomány

A velőállomány sejtjei (chromaffin-sejtek) a kéregkötegek között helyeződnek el, különböző számú sejtből álló csoportokban, szigetekben vagy gócokban. Nagyobb mennyiségben fordulnak elő a mellékvese centrális részén, ahol az erek zöme is megtalálható (Carsia, Harvey 2000). A sejtek elrendeződésének formája, továbbá a kéregállományhoz viszonyított mennyisége madárfajonként és az állat fiziológiai állapotától függően is változik. A velőállomány kisebb hányadát képezi a mellékvesének a kéregállományhoz képest. Alap állapotban, házi tyúkban *(Gallus domesticus)*, gyöngytyúkban *(Numida meleagris)*, japán fürjben az adrenalis állomány a mellékvese térfogatának kb. 25-35%-át teszi ki (Aire 1980, Mikami et al. 1980). A chromaffin-sejtek általában sokszögletűek, különböző nagyságúak, és festődésük erősége is eltérő. A sejtmagjuk általában kerek és centrális vagy excentrikus elhelyezkedésűek (Carmichael et al. 1983, Tang et al. 2009).

A mellékvese velőállományában az epinefrin és norepinefrin külön sejtekben képződik. Megfelelő eljárással a kettő könnyen elválasztható (Vigh, Kondics 1984).

2.5.1.2. A kéregállomány

Ahogy a fentiekben már említésre került, a kéregállomány képezi a mellékvese nagyobb részét. A kéregsejtek tömör sejtkötegekben (perifériás rész) vagy oszlopokban (mélyebb rész) rendeződnek

el, amelyek egymással hálózatosan összefüggenek (Guzsal 1981). Minden egyes sejtköteg, oszlop két sejtrétegből épül fel, ahol a sejtek egymással szemben, és az oszlophoz viszonyítva a hossztengelyükkel merőlegesen helyezkednek el (Carsia, Harvey 2000).

Madarakban a mellékvese kéregállománya messze nem mutat olyan határozott és szabályos zonációt mint az emlősökben (Doneley, Doneley 2010). Ennek ellenére a kéregállomány formája a subcapsularis (tok alatti) zónában az emlősök zona glomerulosa-jához hasonlít, vagyis a kötegek közvetlenül a tok alatt ívben visszahajlanak s ez alatt egy szakaszon radiális, párhuzamos kötegeket alkotnak, amelyek a zona fasciculata-ra emlékeztetnek. A belső zónában a kötegek szabálytalanabb elrendeződésűek. A sejtkötegek formája és elrendeződése fajonként változhat. A külső zóna kötegei vastagabbak, továbbá toluidinnel és hematoxilin-eozinnal megfestve sötétebbek a belső zónához képest (Guzsal 1981, Mikami et al. 1980).

Az interrenalis állományt alkotó sejtek meglehetősen nagyok és henger alakúak, továbbá nagy mennyiségű zsírcseppet tartalmaznak. Fajtól függően a sejtmag ekcentrikus elhelyezkedésű, azaz vagy a bazális membránhoz vagy a sejt apicális végéhez áll közelebb, (Carsia, Harvey 2000, Mikami et al. 1980). A szövettani és ultrastrukturális vizsgálatok azt sejtetik, hogy a madár mellékvese kéregállománya bizonyos zonációs felépítést mutat, amennyiben két illetve három zónára különíthető (Péczely 1972). A periférián lévő sejtek általában nagyobbak, két sejtmagvacskájúak, valamint több zsírcseppet tartalmaznak, mint a centrálisan elhelyezkedő sejtek (Pearce et al. 1978). Hasonlóan az előzőekhez, Holmes és Cronshaw (1984) ultrastrukturális vizsgálatai tőkés réce (Anas platyrhynchos) mellékvesén azt találták, hogy a subcapsularis zóna 40-60 sejtnyi vastagságú, továbbá ezek a sejtek szabálytalan alakú sejtmagot, meglehetősen kevés sima endoplazmatikus retikulumot tartalmaznak, valamint az emlősök zona glomerulosa sejtjeire emlékeztető mitokondriumokat. Ezzel ellentétben a belső zóna sejtjeiben kerek sejtmagokat és jelentősebb mennyiségű sima endoplazmatikus retikulumot, valamint az emlősök zóna fasciculata/reticularis sejtekre jellemző mitokondriumokat figyeltek meg. Knouff és Hartman (1951), Kondics és Kjaerheim (1966), Moens és Coessens (1970), Mikami és mtsai (1980), Guha és mtsai (1990), jellemző zonális különbségeket figyeltek meg több madárfaj (mellékveséjének perifériás és mélyebben fekvő interrenalis sejtjei között. Bhattacharyya és mtsai (Bhattacharyya et al. 1972), viszont nem találtak zonációt a szalonka *(Scolopacidae sp.)* mellékvese interrenalis állományán belül.

Az előzőekben felsorolt irodalmi adatok elsősorban két zónát feltételeznek, de Mikami és mtsai (1980) japán fürjek mellékveséjének kéregszövetét vizsgálva, zonálisan elhelyezkedő, méretükben eltérő négy különböző sejttípust írtak le. A subcapsularis zónában nagy, oszlop alakú sejteket (I. típus) figyeltek meg kerek sejtmaggal, polimorf mitokondriummal, gomba alakú cristaval és viszonylag kevés zsírcseppekkel. A belső zónában kettő, valószínűleg három sejttípust

feltételeznek. A II. típushoz mérsékelten sűrű citoplazmával, sok zsírcseppel és sok kerek mitokondriummal, valamint csöves cristakkal rendelkező nagy oszlopos sejteket soroltak. Sima endoplazmatikus retikulum és Golgi-készülék jól fejlett; vesiculumok a Golgi-készülék és a sejt felszínén találhatóak. A III. típushoz oszlopos sejtek tartoznak és a II. típushoz képest feltűnően „tiszta" citoplazmával rendelkeznek. A IV típus, valószínűleg a III. típusú sejtek degenerált változata.

A hisztokémiai mérések, melynek során a neutrális zsírok, koleszterin és aszkorbinsav eltérő eloszlást mutattak a különböző rétegekben, továbbá a morfológiai vizsgálatok (fény-, és elektronmikroszkópos szinten) eredményei után feltételezhető az, hogy az interrenalis állomány elkülönülő zónái funkcionális szempontból is különböznek egymástól. Például, NaCl terhelés, valamint a szikes tavak Na-sókban gazdag, „sósvizű" környezete a perifériás interrenális kötegek atrofiáját eredményezte ACTH kezelés pedig elsősorban a „mélyebben fekvő", radiális lefutású interrenális kötegek hypertrophiáját idézte elő (Kondics 1963, Péczely 1964, Péczely 1972).

2.5.2. A kéregállomány hormonjai

Az interrenalis állományban, a szteroidok képzésében fontos szerepet játszó enzimek szinte teljes spektruma megfigyelhető (Bhujle, Nadkarni 1976). Az utóbbiak mennyisége és egymáshoz viszonyított aránya az egyedfejlődés során megváltozik. A szteroidokat funkciójuk alapján három csoportra osztjuk: mineralokortikoidok, glükokortikoidok valamint szex szteroidok.

2.5.2.1. A mineralokortikoidok keletkezése, hatása és szerepe

A mineralokortikoid hormonok olyan szteroid hormonok, melyek a gerincesek só- és vízháztartását szabályozzák. Huszonegy szénatom számú molekulák, ún. C_{21}-szteroidok. Gerincesekben a leghatékonyabb és a legnagyobb mennyiségben termelődő természetes mineralokortikoidot, az aldoszteront, elsősorban a mellékvesekéreg zona glomerulosa rétege termeli. Felnőtt madarak mellékveséjében jelentősen kevesebb aldoszteron termelődik mint B (1:19) (Vinson et al. 1979).

Az aldoszteron szintézise (**1. ábra.**) a koleszteron átalakulásával kezdődik, először pregnenolonná, amiből progeszteron majd 11-dezoxikortikoszteron és B keletkezik. Végül a B-ból aldoszteron szintetizálódik, az aldoszteron-szintetáz (multifunkcionális 11β-hidroxiláz) segítségével. Szekrécióját az angiotensin II szabályozza (Gray et al. 1989).

A mineralokortikoidok a szervezet nátrium- és víztartalmát növelik, kálium- és hidrogénion-tartalmát csökkentik. A nátriumion visszaszívásának következtében jelentős mértékű vízvisszaszívás és kloridion-visszaszívás is történik. Hatását az intracelluláris, mineralokortikoid-

receptoron (aldoszteron-receptor, I. típusú glukokortikoid-receptor) fejti ki. A mineralokortikoid-receptor azonos affinitással képes kötni az aldoszteront és a glükokortikoidokat, de az aldoszteron legtöbb célsejtjében megtalálható enzim (11β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz) nagy sebességgel inaktiválja a glükokortikoidokat, így azok nem képesek hatásukat kifejteni.

2.5.2.2. A glükokortikoidok keletkezése, hatása és szerepe

Az aldoszteronhoz hasonlóan a glükokortikoidok is C_{21}-szteroidok. Szintézisük kisebb mértékben a kéregállomány subcapsularis és nagyobb mértékben a mélyebb zónájában történik (Klingbeil et al. 1979). A glükokortikoidok a hatásukat az intracelluláris, glükokortikoid-receptoron (GR) keresztül fejtik ki. A GR a test szinte minden sejtjében megtalálható. A progeszteron és a DHEA antagonista hatással van a GR-ra (Sacco et al. 2002). Felnőtt madarakban a legjelentősebb és a legnagyobb mennyiségben keletkező glükokortikoid a B (**1. ábra.**), annak ellenére, hogy embrionális és posztnatális korban mind a kortizol, mind a kortizon is kimutatható. Nakamura és mtsai. (1978) vizsgálatai szerint a tyúknál és kacsánál a tojásból való keléskor az utóbbi kettő szintje a minimumra, majd két hetes korban a mérhető szint alá csökkent. Tíz napos seregély fiókák plazmájában a B mellett a kortizolt is kimutatták, sőt erős stressz alatt koncentrációja szignifikánsan megnőtt (Schmidt et al. 2009). Ugyakkor madarakban az egyedfejlődés későbbi stádiumában is mértek kortizolt sőt ivarérett madarakban. Hat és három hetes csirkében, fiatal lúdban a kortizol jelentős mennyiségű előfordulásáról is vannak adataink (Majsa et al. 1976, Péczely et al. 2011, Sohail et al. 2011). Az eltérő adatok valószínűleg a fajok közti eltéréseket tükrözik és a különböző mérési technikáknak tulajdoníthatóak.

A glükokortikoidok szintézisének és szekréciójának fő szabályozója az adrenokortikotróp hormon (ACTH); hatására megnő a B koncentrációja a mitokondrium membránjának belső oldalán, továbbá serkenti a B előállításában résztvevő különböző enzimek működését (Carsia, Harvey 2000).

A glükokortikoidok fontos szerepet játszanak a stresssz kiváltotta válaszreakciók szabályozásában. A B szekréciója drámai módon megnő, amikor a madarakat erős stressz éri. „Handling” okozta stressz után néhány perccel japán fürjben megnő a vér B szintje, majd stimulálás után 15-30 perccel éri el a maximum szintet, de még 60 perc után is magas értékeket figyeltek meg (Cockrem et al. 2010). A stressz kiváltotta válaszreakció mellett a B fontos szerepet játszik az immunválasz szabályozásában (celluláris immunválasz) (Roberts et al. 2007), továbbá megnövekedett alapszintje elősegíti a madár- vonulás energetikájának biztosításához szükséges zsírdepók kialakulását (Holberton et al. 2007).

A glükokortikoidok és a szaporodás folyamatai között a kapcsolat ellentmondásos; pozitív és negatív kölcsönhatásokat is leírtak. Habár emlősökben a glükokortikoidok egyik legjellemzőbb

hatása a gonadális hormonok ürítésének gátlása (Cumming et al. 1983, Orr, Mann 1992, Sapolsky 1985), madarak esetében a gátló, a serkentő és a semleges hatás egyaránt megfigyelhető. A szabadon élő háromujjú csüllőnél (*Rissa tridactyla*), a meglehetősen magas B alapszint csak a tojók szaporodó készségét csökkentette, továbbá az endogén B képződésének gátlásával előrehozták azok fészkelési idejét, miközben a hímekben semmilyen változást nem figyeltek meg (Goutte et al. 2010). Ellenben fogvatartott hím zebrapintyeknél már néhány órás ételmegvonás okozta stressz is jelentősen csökkentette az udvarló magatartást (éneklést) (Lynn et al. 2010). A tápvizbe oldott B (elsősorban magasabb dózisu: 0,61-1,51 mg/madár/nap) csökkentette a tojások tömegét valamint a rendszeresen tojó japán fürjek százalékos arányát (Wall, Cockrem 2010). Szexuálisan aktív hím japán fürjek B kezelése pedig csökkentette a plazma tesztoszteron szintjét (Péczely, Daniel 1979). Ugyanakkor szexuálisan inaktív hím és tojó japán fürjek B-vel kezelése a gonadális funkciók enyhe stimulálását eredményezte (Péczely 1985). Territoriális, vadon élő hím énekes verébsármányok *(Melospiza melodia)* és amerikai verébsármányok *(Spizella arborea)* plazmájának LH és T koncentrációját, valamint territoriális viselkedését (szaporodási időszakban) nem befolyásolták a bőrük alá ültetett B implantátumok (Astheimer et al. 2000, Wingfield, Silverin 1986).

Madarakban az androgének – elsősorban a T – hatása a glükokortikoidokra ugyancsak ellentmondásos. Rövid nappalos szexuálisan inaktív, hosszú nappalos szexuálisan aktív hím fürjek, valamint fotostimulált hím galambok *(Columba livia)*, házi kakasok és pekingi récék *(Anas platyrhynchos domestica)* kasztrálása szignifikánsan növelte, azok T-al való kezelése pedig csökkentette a plazma B szintjét (Péczely 1982). Ezzel ellentétben egyes énekesmadarak (téli sármánypinty, seregély, házi veréb (*Passer domesticus)*, énekes verébsármány) T kezelése a plazma B és CBG szint erős növekedését idézte elő (Duffy et al. 2000, Evans et al. 2000, Ketterson et al. 1991, Klukowski et al. 1997, Owen-Ashley et al. 2004, Schoech et al. 1999), míg más fajban (piroshátú tündérmadár *(Malurus melanocephalus)* viszont nem okozott semmilyen változást (Lindsay et al. 2011).

Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a gonadális és az adrenális rendszer között bonyolult kölcsönhatás működik, továbbá a két szerv összehangolt és pontos funkciója fontos szerepet játszik a madarak – különösképpen a szezonálisan szaporodó fajok – egész éves ciklusának szabályozásában.

2.5.2.3. Az adrenalis szex szteroidok keletkezése, hatása és szerepe

Madarakban hasonlóan az emlősökhöz a szex szteroidok elsődleges keletkezési helyszíne a gonádok, de jelentős mennyiségben termelődnek még a mellékvesekéregben és az agyban is (Tanabe et al. 1979, Tsutsui et al. 2003). A madár mellékvesében, a szex szteroidok

bioszintézisében részt vevő dehidrogenáz enzimeket kifejezetten csak az interrenalis állományban észlelték (Bhujle, Nadkarni 1976). Emlősök mellékveséjében, a szex szteroidokat a kéregállomány legbelső, zóna reticularis-a termeli (Hyatt et al. 1983), madarakban keletkezési helyük pontosan nem tisztázott.

A felépítésüket és jellegüket tekintve a szex szteroidok 3 csoportra oszthatóak; C_{19}-szteroidok: androgének (androszténdion, dehidroepiandroszteron, dihidrotesztoszteron és tesztoszteron), C_{18}-szteroidok: ösztrogének (ösztradiol, ösztriol és ösztron), valamint a C_{21}-szteroidok: progesztagének (progeszteron).

A mellékvese által a legnagyobb mennyiségben termelt és leginkább ismert androgénja a dehidroepiandroszteron (DHEA). Bioszintézisének alapja a koleszterol, amely a P450 enzim hatására pregnenolonná alakul, amit a CYP17A1 enzim először 17alfa hidroxipregnenolonná majd DHEA hormonná konvertál (**1. ábra.**). Szintézise elsősorban az ACTH szabályozása alatt van (Fehér et al. 1985, Rainey, Nakamura 2008).

A mellékvesében keletkező szex szteroidoknak különösen nagy jelentősége van az embrionális és közvetlenül a kelés utáni korai időszakban, amikor még a gonádok szteroid termelése minimális (Tanabe et al. 1979, Tanabe et al. 1983). Miután a gonádok átveszik a szex szteroidok szintézisének jelentős részét, a mellékvesében keletkező szex szteroidok elsősorban a „prekurzor" szerepét játszák a későbbi szteroid termelő helyeken (Freking et al. 2000). Egyes madárfajokban, a nagy valószínűséggel főként a mellékvesében termelődő DHEA, fontos szerepet játszik az őszi agresszív territoriális magatartás kialakításában, amikor a vér T szintje alacsony (Soma, Wingfield 2001). Sokáig azt feltételezték, hogy a DHEA nem rendelkezik specifikus receptorral. 2002-ben viszont Liu és Dillon (2002) kimutattak egy nagy affinitású G fehérje DHEA receptort a szarvasmarha aortájának endotél sejtjeiben. Ennek ellenére a DHEA pontos hatásmechanizmusa ma még kevésbe ismert.

2.5.3. A mellékvesekéreg funkció évszakos változása

2.5.3.1. Az aldoszteron évszakos változása

A mellékvese szezonális aldoszteron termelése és szekréciója a gerincesekben többé-kevésbé megfigyelhető. Rénszarvasnál *(Rangifer tarandus)* télen alacsonyabb szérum aldoszteron szintet mértek mint nyáron, továbbá a B szintje nem mutatott szezonális változást. A téli alacsony szérum Na^+ mennyiség exogén úton történő növelése sem változtatott az aldoszteron szinten (Lund-Larsena et al. 1978). Amirat és munkatársai (1980) ugyancsak szezonális aldoszteron termelődést mértek sivatag-egérben *(Psammomys obesus)*. Értéke nyáron érte el a minimális és ősszel – a szaporodási

időszak idején - a maximális szintet, a plazmában és a mellékvesében is. Az aldoszteron és a B koncentrációja azonos módon változott az éves ciklus folyamán, miközben a plazma Na^+ és K^+ koncentrációja egész évben magas szinten maradt minimális változás mellett. Úgy tűnik, hogy egyes fajokban az aldoszteron szezonális termelődése és szekréciója eltér a vérben található Na+ ionok mennyiségétől, azaz az akut reakció mellett egy genetikailag meghatározott rendszer szabályozza szezonális szintézisét és szekrécióját.
Madarakon az aldoszteron évszakos változásáról nem rendelkezünk adatokkal.

2.5.3.2. A B évszakos változása

Madarakban, és különösen a szezonálisan szaporodó fajoknál a B éves fluktuációja fontos szerepet tölt be azok viselkedésének és fiziológiájának a szabályozásában. A B produkció fokozódását több fajban is leírták a migráció előtti fázisban és alatt (Péczely 1976). A vonulást megelőző időszakban a madarak gyakran nagy csapatokba verődnek (flocking) és közvetlenül a vándorlás előtt „fokozott izgalmi állapotba" (Zugunruhe, migratory restlessness) kerülnek (Holberton et al. 2008). A mérsékelten magas B szint nem csak a hiperfágia és vele együtt a zsírdeppók kialakulását segíti a premigratorikus fázisban, hanem a vándorlás során arra készteti a madarakat, hogy leszálljanak a táplálkozóhelyekre (stop over effektus), amikor már kimerültek az energiaraktáraik (Falsone et al. 2009, Holberton 1999, Silverin et al. 1989, Wingfield et al. 1996).
Egy részletes irodalmi összefoglaló szerint, meglehetősen sok madárfajra jellemző a B koncentráció szezonális változása (Romero 2002). Az összefoglalóban említett 23 tanulmányból, azaz 23 madárfajból 17 faj esetében (74%) írták le a B évszakos változását, ahol az esetek többségében a maximális értékét a szaporodási vagy azt közvetlenül megelőző időszakban érte el. A tanulmányban három madárfaj; a kaktuszökörszem (*Campylorhynchus brunneicapillus*), a görbecsörü gezerigó (*Toxostoma curvirostre*) és a feketetorkú sármány (*Amphispiza bilineata*) képezett kivételt, de ezen utóbbiak mind sivatagban, azaz extrém körülmények között élnek és költenek (Wingfield et al. 1992b). Esetükben a szaporodás kezdetét az eső jelenléte és hiánya határozza meg, aminek az időpontja igen csak kiszámíthatatlan. A „szabályos" szezonális hatás az utóbbi három fajra tehát kevésbé jellemző.
Más – a fenti összefoglalóban nem említett – irodalmi adatok ugyancsak magas B értékekről számolnak be a szaporodási időszakban, ugyanakkor ez az említett periódus nem minden szakaszára igaz. A többször költő balkáni gerle *(Streptopelia decaocto)* és az egyszer költő vetési varjú *(Corvus frugilegus)* hím és nőstény egyedeiben ugyanis tavasszal a gonádaktivitás megindulásakor a plazma B tartalma lecsökken. Ugyanakkor a gonádműködés maximuma idején már mind két fajban meglehetősen magas B plazma koncentráció alakul ki (Péczely 1982). Költés után, vedlés

idején egyes madárfajoknál lecsökkent (Romero 2002), másoknál ugyanakkor pedig maxium értékeket mértek (Péczely 1982). Úgy tűnik, hogy az alacsony értékek elsősorban a kistestű énekesmadarakra vonatkoznak. Az itt felsorolt adatok arra engednek következtetni, hogy az adott fázisokat (elsősorban a. szaporodási fázis) nem szabad „egy, homogén egységként" elemezni, azok összehasonlítása csak nagyobb időbeli felbontásban (szakaszait elemezve) ajánlott.

Nehéz magyarázatot adni arra, hogy miért találtak a fajok között ennyire eltérő eredményeket a B évszakos fluktuációját illetően. További részletes szezonális vizsgálatok szükségesek – B-ra vonatkozólag - különböző énekesmadarakon, hogy megismerhessük ennek tényleges okát. Fontos a mintavétel időpontja, ill. a B szint összevetése más hormonokkal: elsősorban a pajzsmirigy hormonokkal és a szexuál szteroidokkal. Helyes értelmezés, csak az interhormonális interakciók ismeretében lehetséges. További érdekességnek számít, hogy jelentős számú madárfajban az alap B szint szabályos szezonális ritmicitást mutat, míg a stressz okozta B válaszra nem jellemző (kivéve vedléskor) az ilyen típusú éves fluktuáció. Ezek szerint a kettő szabályozása eltérő mechanizmus alatt működhet (Romero 2002). Több laboratóriumi vizsgálat azt látszik alátámasztani, hogy az alap és a stressz B koncentráció nem csak eltérő szabályozás alatt van, hanem azok egyben eltérő fiziológiai funkciókat látnak el, valószínűleg más-más receptorokon keresztül hatva (Sapolsky et al. 2000).

2.5.3.3. A DHEA évszakos változása

A madár DHEA-val kapcsolatos tanulmányok csak az utóbbi 10 évben kerültek előtérbe. Szerepét elsősorban a szaporodási időszakon kívüli agresszió szabályozásának tulajdonítják, amikor alacsony a plazma T szintje. Ez különösen igaz az egyes énekesmadarakra (énekes verébsármány, (Soma, Wingfield 2001), fehér torkú verébsármány *(Zonotrichia albicollis)* (Spinney et al. 2006), foltos hangyászmadár *(Hylophylax naevioides)* (Hau et al. 2000), de magasabb DHEA szintet figyeltek meg továbbá a házilúdnál is az őszi reaktivációs időszakban (Xuan et al. 2005).

A plazma növekvő DHEA szintje összefügghet a madarak agresszív magartásával. Az említett vizsgálatokban a plazma DHEA koncentrációja mindig a szaporodási és/vagy az őszi nem reproduktív időszakban érte el maximumát. A szezonálisan változó és az agresszióval összefüggő B és DHEA koncentrációt a mellékvesén végzett morfológiai és morfometriai vizsgálatok is alátámasztják. Bhattacharyya és Ghosh (1965), valamint Riddle (1923) azt találták, hogy házi verebek és a galambok mellékveséjének interrenalis állománya megnő a szaporodási időszakban. Verebek esetében fészkeléskor megnőttek a centrális zónában lévő sejtek (B és DHEA szintézisének helye) a subcapsularis zónához (aldoszteron szintézisének helye) képest, míg a nem fészkelési időszakban fordított helyzet alakult ki (Moens, Coessens 1970).

2.6. A madarak reproduktív magatartása

2.6.1. A reproduktív magatartás leírása, típusai

A reproduktív magatartás alapvető célja, hogy felhívja a másik ivar figyelmét, általában azonban ennek a magatartásnak más szerepe is van. A násztánc (dürgés) bonyolult mozdulatai és a madárének segítenek különbséget tenni a fajok között, azaz meghatározzák az egyed faji hovatartozását, így biztosak lehetnek abban, hogy számukra a megfelelő partnert választották. A reproduktív magatartás - típusától függően - kifejezheti az egyed erejét és dominanciáját, egészségi állapotát, valamint párosodási hajlamát és ezzel egyben lehetőséget nyújt, hogy a hozzá leginkább illő partnert válassza, amellyel életképes utódokat hozhatnak a világra.
A madárvilágban különböző nászrituálékat különböztethetünk meg. A legtöbb faj több módszert is alkalmaz:

- **Éneklés**: Az énekesmadár-alkatúak *(Passeriformes)* legjellemzőbb udvarlási módja az éneklés (bird song). Az ének bonyolultsága vagy annak változatossága pontos képet ad az egyed koráról, erejéről. A territoriális madarak énekléssel tudatják a fajtársaknak a saját területük határát. Egyes fajoknál csak az egyik nem (általában a hím), míg más fajoknál a két nem duettet alkotva énekel (pl. szövőpintyek). A madárének mellett létezik egy másik vocalizáció típus, az ún. „kiáltás” (bird call). Ez általában rövid, egyszerű, többnyire hasonló, ismétlődő elemekből áll, melyek amplitúdója és frekvenciája többé-kevésbé állandó, és főleg veszély jelzésére használatos, vagy az esetleges csoportok tagjai közti kapcsolattartást teszi lehetővé. Ezzel szemben az ének (bird song) hosszabb, komplexebb; különböző, nem feltétlenül ismétlődő elemek építik fel. Ezek az elemek vagy strófák szabályosan vagy szabálytalanul követik egymást, és gyakran változó amplitúdójúak és frekvenciájúak (Catchpole, Slater 1995).
- **Megjelenés**: A színponpás nászruha, a dísztollak előtérbe helyezése, valamint a bőrredők vagy a pozitúra beállítása, mind az udvarló madár erejét és egészségi állapotát tükrözi. Pávánál *(Pavo cristatus)* ez a magatartás igen csak feltűnő, míg más fajoknál a testtartás legcsekélyebb változása is elég lehet arra, hogy a tollazatuk a lehető legjobb formáját mutassa (Harikrishnan et al. 2010, McKinney 1992).
- **Násztánc**: A fizikai mozgások, a vízben való merész alámerüléstől a bonyolult mozdulatsorozatig, mint pl. a szárnycsapkodás, fejelhajlás vagy a különböző járásmódok, mind a nászrituálé részei lehetnek. A fajok többségében a hím egymaga járja a násztáncot a tojó előtt, miközben az utóbbi figyelemmel kíséri azt. Minden apró mozgáshiba arra

utalhat, hogy az illető kevésbé tapasztalt vagy netán nem eléggé motivált, ami a párosodás meghiusulásához vezethet (Scholes 2006).

- **Tollászkodás**: A hím és a tojó közvetlen közelsége is része lehet a nászmagatartásnak, ugyanis segít szétoszlatni a közelség okozta agressziót. Ilyen testközelben vagy egymás tollazatát tisztogatják, rendezgetik (allo-preening), vagy finoman egymáshoz dőlnek, s saját magukat tollásszák (auto-preening) tudatva a másikkal, hogy nincsenek rossz szándékaik (Skeate 1984).
- **Etetés**: A másik partnernek való táplálék felkínálása gyakori jelenség a madárvilágban. A hím azzal, hogy csőrében elhozza a tojónak a táplálékot azt demonstrálja, hogy nem csak megtalálni, hanem megosztani is képes a táplálékot, amikor majd a tojó a tojásokon kotlik. Egyes esetekben a hím csak elhozza és leteszi a táplálékot a tojó elé, míg más esetekben közvetlenül a szájába helyezi, úgy ahogy a fiókák esetében szokta (Stokes et al. 1971).
- **Fészeképítés**: Egyes madárfajok, mint pl. a szövőmadarak *(Ploceus spp.)* azzal vonják magukra a partner figyelmét, hogy egyszerre akár több "fészek remekművet" építenek. A tojók megérkezése előtti fészeképítéssel a hím megmutatja igényét a terület iránt, valamint, hogy azt védeni is hajlandó. A fészket gyakran kidekorálják különböző anyagokkal, mint pl. kavics, moha, viragok vagy akár hulladék. A tojó ekkor eldöntheti melyik fészket választja, vagy akár a választott hímmel közösen egy új fészket épít fel (Walsh et al. 2011).

2.6.2. A reproduktív magatartás központi szabályozása

A mérsékelt égövön élő madarak többsége csak a szaporodási időszakban énekel, de bizonyos fajok az év más időszakában is folytatják az éneklést (Logan, Wingfield 1990, Schwabl, Kriner 1991, Wingfield 1994). Míg tavasszal az ének elsődleges szerepe a másik nem figyelemfelhívása és a territórium védelme, addig az őszi időszak szaporodással nem kapcsolatos vokalizációja/éneke a territoriális agresszióval, hierarchikus dominanciával vagy csapat (flock) kohézió fenntartásával magyarázható (Hausberger et al. 1995, Landys et al. 2010, Wacker et al. 2010).

Több tanulmány szerint az ösztrogének és/vagy az androgén metabolitok felelősek a madarak nászmagatartásáért (Balthazart et al. 1996, Maney et al. 2008, Springer, Wade 1997). Ezt a viselkedést a magasabb androgén szint (keringő, vagy *de novo* agyban szintetizált) - elsősorban a tesztoszteron (T) – jellemzi, amelyet az aromatáz enzim (ARO) alakít át aktív metabolitokká (ösztrogénekké) az agy specifikus területein (Charlier et al. 2008, Matsunaga et al. 2002).

A hangképzésért bonyolult központi idegrendszeri apparátus a felelős. A szabályzórendszerben négy agyi mag is meghatározó szerepet játszik: a hallóközpont, a high vocal center (HVC), a robust nucleus of the archistriatum (RA) és a XII agyideg magva, melyek aktivitását a szaporodási

időszakban a T szint növekedése fokozza. A magok mérete általában ivari dimorfizmust mutat. Ilyet figyelhetünk meg hím zebrapintyeknél, ahol bizonyos énekmagok akár 4-5× nagyobbak a tojókénál. Ahol a hím és a tojó is egyformán énekel, mint pl. a feketesapkás ökörszem (Thryotorus nigricapillus) ott nincs különbség a magok mérete között (Brenowitz, Arnold 1985). Nem csak ivari dimorfizmust mutatnak az énekesmadarak énekszabályozó magjai, hanem a térfogatuk is változik az éves ciklus folyamán. A jelenség neve a neuroplaszticitás, melynek lényege, hogy a neuronok mérete, száma valamint elhelyezkedése megváltozik. Az első ilyen megfigyelést madárban – pontosabban kanáriban (Serinus canarius) - Nottebohm (Nottebohm 1981) írta le. Az énekszabályozó rendszer tehát létfontosságú az énekesmadarak ének tanulásához és képzéséhez. Ugyanakkor viszont a köztiagy (diencephalon) tűnik felelősnek a gerincesek nászmagatartásának a szabályozásáért. Ugyanis, pl. a diencephalikus POA nem csak ösztrogén és androgén receptorban gazdag, valamint a GnRH szintézisének a helyszíne, hanem az ARO aktivitása (AA) is igen magas (a szaporodási időszakban) (Belle, Lea 2001, Gahr, Hutchison 1992).

Sok gerincesben a T ösztrogénné való neurális átalakítása kulcsfontosságú az agy és a viselkedés szexuális differenciálódásához (Balthazart et al. 2009, MacLusky, Naftolin 1981), valamint hímeknél a felnőttkori szexuális viselkedés aktiválódásához (Hull, Rodriguez-Manzo 2009, Panzica et al. 1996). Így vált az ARO a szexuális magatartás kutatásának egyik legfontosabb vizsgálati elemévé. A hipotézis szerint, a nemek közötti eltérő szexuális magatartás kifejeződése valójában a T agyban történő eltérő metabolizmusának köszönhető. A hypothalamusban, de különösen a POA-ban ugyanis az AA-a szignifikánsan eltért a nemek között (Balthazart et al. 1990, Schumacher, Balthazart 1986).

A diencephalonban (POA, POM) vagy a periférián történő különböző kísérleti beavatkozások megakadályozhatják vagy visszaállíthatják a nászmagatartás kialakulását, különböző madárafajokon. Hím zebrapintyek ivartalanítása minimális szintre csökkentette azok udvarló magatartását, beleértve az éneklést is (Harding et al. 1983). Hím japán fürjek ARO aktivitásának gátlása – hasonlóan a POM léziójához - szignifikánsan csökkentette az ivartalanított és a T-al kezelt madarak nászmagatartását (Balthazart et al. 1998, Balthazart et al. 1997). Tavasszal, amikor magas a plazma T szintje, a hím seregélyek POM területe rendkívűl erős ARO immunreaktivitást mutat, ellentétben az őszi időpontban megfigyeltekkel (Riters et al. 2000). Kasztráció hatására megszűnik a seregélyek udvarló éneklése, T pótlásával viszont visszaállítható a folyamat. Ugyancsak magas plazma T szintet igényel a fészekodú birtokbavétele, továbbá a fészek zöld növényekkel való kibélelése is (Pinxten et al. 2002). Ugyanakkor, a hím seregélyek ivartalanítása nem csökkentette az éneklés aktivitását a tojók távollétében, és a mesterségesen megemelt plazma T értékek sem befolyásolták a szaporodási időszakon kívűli éneklést. Egy másik kísérletben, a hím seregélyek énekrátája vagy sztereotípiája nem különbözött az ivartalanított és a kontroll csoport, valamint az

őszi és a tavaszi madarak között. Ezzel ellentétben az átlagos énekhossz szignifikáns növekedése az ősz-tavaszt átívelő periódusban arra utalhat, hogy a jelenség nem a gonadális, hanem nagy valószínűséggel egy másik androgénnek, elsősorban a DHEA-nak köszönhető. Továbbá, az ének csak bizonyos paramétereit befolyásolhatja a szezonális T változás (Soma et al. 2008, Van Hout et al. 2009). Összefoglalva, a POA és ezen belül található POM fontos szerepet játszhatnak az összes madárfaj nászmagatartásának – beleértve az éneklést is - szabályozásában.

3. ANYAG és MÓDSZER

3.1. Kísérleti állatok

A vizsgálatok felnőtt hím seregélyeken végeztük, melyek természetes környezetben kerültek megfigyelésre és sörétes fegyverrel lettek begyűjtve. A magatartási megfigyelések Budapest XXI. kerület parkos övezetében, míg a szövettani vizsgálatokhoz szükséges madarak begyűjtése Abony, Gyömrő és Etyek lakóövezetén kívűl történtek. A tavaszi megfigyelések és mintagyűjtések során igyekeztünk külön, s nem sűrű kolóniákban fészkelő seregélyeket keresni. Ez ugyanis megkönnyítette számunkra az egyedek azonosítását, továbbá a madarak viselkedését, násztáncát is kevésbé befolyásolták a fajtársaik jelenléte (ami lehetetlenné tette volna a hangfelvétel készítését), valamint az egyedek fenológiai állapotának beazonosítását is megnehezítette volna. Az állatok begyüjtése, majd a mintavételezés a Duna-Ipoly Nemzeti Park és a Közép-dunántúli Környezetvédelmi, Természetvédelmi és Vízügyi Felügyelőség szabályaival összhangban történtek (engedélyek száma: 6340/2/2003, 17/6-4/2004, 92172-6/2005, 6958/2006, 16375-3/2007).

3.2. A klimatikus tényezők meghatározása

Vizsgálatainkban a szaporodásbiológiai folyamatokat leginkább befolyásoló három klimatikus paraméter szezonális változását vizsgáltunk; a nappalok hosszát, a hőmérsékletet, valamint a csapadékmennyiséget. Az előbbihez az Európai Meteorológiai Szolgálat, az utóbbi kettőhöz pedig az Országos Meteorológiai Szolgálat adatainak több évtizedes átlagát használtuk fel.

3.3. Kísérleti protokoll

2003 és 2007 között több mint 100 különböző korú és nemű madarat fogtunk be, a dolgozatban azonban csak felnőtt, ivarérett hímeket használtuk fel (**1. táblázat.**). Az elejtett madarak testtömegét lemértük, majd azonnal dekapitáltuk és vért vettünk tőlük. A minták begyűjtése valamint kezelése maximum 2 percet vett igénybe. Az állatok csoportosítása azok fenológiai állapotának a figyelembevételével történt és ennek alapján 5 csoportot különítettünk el: március második fele (fotoszenzitív állapot, március II), április első fele (udvarlás, április I), április második fele (kotlás, április II), május első fele (fiókák kelése, május I) valamint augusztus második fele (fotorefrakter állapot, augusztus II). A magatartási megfigyelések 2009-ben, az előzőekkel azonos időpontban történtek.

1. táblázat. Az egyes mérésekben és időpontokban vizsgált seregélyek egyedeinek száma (db).

	március II	április I	április II	május I	augusztus II
testtömeg	9	7	5	6	4
zsírsejtek mérete	3	6	3	2	3
GnRH-I ID POA	3	5	4	4	4
GnRH-I sejttestek mérete	3	5	4	4	4
GnRH-I ID EM	4	3	4	5	2
here térfogata jobb	4	3	3	3	3
here térfogata bal	4	3	4	4	3
tunica albuginea vastagsága	6	5	4	4	4
interstitium vastagsága	6	5	5	5	4
herecsat. keresztmetszet. ter.	5	5	5	5	4
germ. epith. vastagsága	5	5	5	5	4
germ. epith. sejttípusok	5	5	5	5	4
inter./andren. hányados	5	4	4	5	3
3 zóna sejtmagmérete	4	4	4	5	3
T koncentráció	5	5	3	6	3
DHEA koncentráció	5	5	4	6	3
B koncentráció	6	7	7	5	4
ARO immunreaktivitás	4	4	4	4	4
átl. énekhossz	5	8	4	10	10

3.4. A vér szteroidtartalmának meghatározása ^{3}H-RIA módszerrel

Az állatoktól 0,5-1 ml vért vettünk, melyet heparint tartalmazó csövekbe gyűjtöttünk. A csövek ezután hűtőtáskába kerültek, majd a laborba beérve lecentrifugáltuk (3500/min) és szeparáltuk a plazmát. A plazmamintákat felhasználásig -20 °C-on tároltuk. A vizsgálat során vérplazmából szteroid hormonok meghatározását végeztük, RIA (Radio Immuno Assay) módszerrel.
A T RIA kivitelezése Jallageas módszere (Jallageas 1975) szerint; a DHEA RIA kivitelezése Fehér Tibor módszere (Fehér T. személyes közlése) szerint, a B RIA kivitelezése pedig Mihály Katalin módszere (Péczely, Pethes 1981) szerint történtek.

3.4.1. Az extrakció menete

Próbaméréseink során meghatároztuk az általunk mérni kívánt, szteroid hormonok kimutatásához szükséges minimális plazmamennyiséget. Mindhárom hormon esetében 50 – 100 µl plazmából történt a meghatározás. A RIA-t megelőzően a felolvasztott plazmamintákat háromszor extraháltuk (dietil-éterrel a szex hormonok és diklór-metánnal a B meghatározáshoz). A rázatások után a fázisokat fagyasztással különítettük el, majd felülúszókat csövekbe gyűjtöttük. Az így kapott mintákat szárazra pároltuk és meghatározásig -20 ºC-on 100 % etanolban tároltuk.

3.4.2. A RIA menete

Felhasznált anyagok

Foszfát-puffer:

- pH 7,4-7,6
- A komponens: 1,095g NaH_2PO_4. $2H_2O$ + 80 ml bideszt.víz
- B komponens:15,0525g $Na_2HPO_4.2H_2O$ + 420 ml bideszt.víz
- A+B komponens (500 ml), ebben feloldani 0,05 g zselatint.

Kötőanyagok az egyes szteroidok szerint:

Tesztoszteron:

- 20 ml puffer 100 µl ^3H –tesztoszteron Testosterone, [1,2,6,7-^3H] [American Radiolabeled Chemicals, Inc.: ART 0768]
- 60000-szeres hígítású T-antitest : 33µl
- Poliklonális T antiszérum BSA-tesztoszteron-3-hemszukcináttal szemben fejlesztették ki (Peter Sharp, Edinburgh U.K). Érzékenység: 10 pg/cső, intra- assay 6–9% -, inter assay 5–8%.
- Keresztreakciói: T: 100%, epiandroszteron: 38,89%, 5α-androsztén-3α,17β-diol: 60,89%, 4-androsztén-3,17-dion 36,73%, Δ5-androsztén-3β-17β-diol: 43,33%, dehydro-iso-androszteron-3-szulfát: 17,22%, etiokolan-17β-ol-3-on: 33,68%, 5α-androstén7β-ol-3-on: 64,43%, 5β-androsztén-3α,17β-diol 12,35%, 17β-ösztradiol: 3,00%, 17α-hydroxi-progeszteron: 1,50%, progeszteron: 1,00%.

Dehidroepiandroszteron:

- 20 ml puffer 100 µl ^3H -dehidroepiandroszteron, Dehydroepiandrosterone, [1,2-^3H] [American Radiolabeled Chemicals, Inc.: ART 1171] 500-szoros hígítású DHEA-antitest: 1 ml
- Poliklonális DHEA antiszérum BSA-dehydroepiandrosteron-3-hemiszukcináttal szemben fejlesztették ki (Fehér Tibor, Budapest, Magyarország). Érzékenység: 10 pg/cső, intra- assay 6–8%, inter assay 9-12%.

- Keresztreakciói: DHEA: 100%; DHEA-S: 89%; androszteron: 26%, etiokolanolon: 7%. A magas fokú keresztreakció a DHEA-szulfáttal nem zavarja a DHEA meghatározást, mivel a DHEA-S nincs jelen a madár szteroid metabolizmusában.

Kortikoszteron:

- 20 ml puffer 100µl ^{3}H -kortikoszteron, Corticosterone, [1,2,6,7-^{3}H] [American Radiolabeled Chemicals, Inc.: ART 0652] 500-szoros hígítású B-antitest: 4 ml
- Poliklonális antitest: Corticosterone -3-CMO-BSA (ACRIS Antibodies GmbH, Hiddenhausen, Németország). Érzékenység: 10 pg/cső, intra- assay 5-6%, inter assay 7-9%.
- Keresztereakciói: Kortikoszteron 100%, 11-DeoxyKortikoszteron 9%, Progeszteron 0.2%,
- 17- α –hidroxy-progeszteron <0.01%, 11-Deoxikortizol <0.01%, Kortizol <0.01%, E2 <0.01%, Tesztoszteron <0.01%

Szcintillációs koktél:

- toluol-Triton-X-100
- PPO-POPOP primer és szekunder Szcintillátor

Aktív szén (Charcoal) Dextrán T-70-nel bevonva.

3.4.3. A meghatározás menete:

A mintákból nyert szteroid tartalmú alkoholos extraktumokat szárazra pároltuk, majd a ^{3}H jelölt szteroidokat és a specifikus antiszérumot tartalmazó foszfát puffer aliquotjával Vortex-mixerrel szuszpendáltuk. Egy éjszakán át +4 °C-os tárolást követően a szteroid tartalmú oldatokból a Charcoal-os szeparálással különítettük el az antiszérumhoz kötött ún. kötött (bound) és a szabadon maradt (free) radioaktivitást. A szabad radioaktivitást, illetve az antiszérumhoz nem kötött szteroidokat a Dextrán-T-70-nel kezelt aktív szénszemcsék abszorbeálták és ezt a hűthető centrifugálással elkülönítettük. A minták meghatározása LKB-Wallack típusú Scintillációs Spektrométer segítségével történt.
A fenti módszerrel (amelyet a módszerek beállításakor elvégzett „kereszt reakciókkal” teszteltünk) 2 szexuálszteroid (T, DHEA) és kortikoszteron (B) szintjét tudtuk nagy érzékenységgel (10 pg/cső) és specificitással meghatározni.

A Szcintillációs Spektrométer által lemért kötött radioaktivitásokból, standard görbékhez viszonyítva, a Szaporodásbiológiai Tanszék által szerkesztett Excel alkalmazás segítségével meghatároztuk az 1 ml plazmára vonatkoztatott T, DHEA és B koncentrációkat.

3.5. Paraffinos metszetek szövettani vizsgálata

A 4%-os pufferolt formalinban immerziós eljárással fixált szövetmintákat (zsír, here, mellékvese), felszálló alkoholsorozatban víztelenítettük, majd paraffin blokkokba ágyaztuk, amelyekből 5 µm vastag metszeteket készítettünk mikrotóm segítségével (Reichert, Austria). Minden blokkból 5-6 metszetet szilánnal (3-aminopropyltriethoxy-silane (Sigma Aldrich Co., St Louis, MO, USA)) kezelt tárgylemezekre húztunk. Egy-egy metszetet hematoxilin-eozin (Reanal, Budapest) festéssel (HE), festettünk meg. A metszetekről OLYMPUS DP70 mikroszkóp és 3-CCD kamerával készült digitalis képeket, ImageJ program segítségével analizáltuk.

3.5.1. A zsírszövet morfometriai vizsgálata

Annak eldöntésére, hogy a zsírok depponálása a zsírsejtekbe milyen mértékben követi a testtömeg szezonális változását, morfometriai méréseket végeztünk ugyanazon állatok zsírszövetében. Ennek vizsgálatára az elejtett madarak hasüregi zsírszövetéből vett mintát fixáltuk és dolgoztuk fel a fent említett protokol alapján. Állatonként két metszetről, 200×-os nagyítással készült képekről végeztük a méréseket, melynek során meghatároztuk a 400 µm × 400 µm méretű négyzeten belül található összes zsírsejtek felületét. Az értékeket μm^2-ben adtuk meg.

3.5.2. A here morfológiai és morfometriai vizsgálata

A boncolás során, a seregélyek mindkét heréjét eltávolítottuk és a méretvételezés után lefixáltuk majd paraffinba beágyaztuk azokat. Ezt követően a szerveket lemetszettük, megfestettük és elvégeztük a különböző morfometriai vizsgálatokat.

3.5.2.1. A here térfogata

A nedves szervek (bal és jobb) hosszát és szélességét 0,1 mm-es pontossággal megmértük. A here térfogatának meghatározásához a tojásdad alakúakra alkalmazott képletet használtuk (Perfito et al. 2006):

$$V = (\pi \times \text{hossz} \times \text{szélesség}^2)/6$$

3.5.2.2. A tunica albuginea vastagsága

Mivel a tunica serosa és vasculosa rendkívűl vékonyak, ezért a tunica albuginea mérésével valójában az egész heretok vastagságát határozhatjuk meg. Állatonként két metszetet – 400×-os nagyítás mellett – vizsgáltunk meg, melynek során a tunica falára húzott – metszetenként 40-et - merőlegessel határoztuk meg annak a vastagságát. Az adatokat µm pontossággal adtuk meg.

3.5.2.3. A heretubulusok keresztmetszetének a területe

Állatonként két metszetről, 200×-os nagyítással készült képekről végeztük a méréseket és 40-40 (kevesebb esetén az összes értékelhető) tubulus kersztmetszetének területét határoztuk meg. Az adatokat μm^2 pontossággal adtuk meg.

3.5.2.4. Az interstitium vastagsága

Az interstitium vastagságának meghatározásánál állatonként két metszetet vizsgáltunk – 400×-os nagyítás mellett -, mindegyiken 20-20 mérést végeztünk, úgy hogy két egymás mellett levő heretubulus között merőlegest húztunk. Az adatokat µm pontossággal adtuk meg.

3.5.2.5. A germinális epithelium (csírahám) vastagsága

Állatonként két metszet heretubulusainak germinális epithelium vastagságát mértük 400×-os nagyítású képeken. A germinális epithelium képezi a heretubulus belső sejtpopulációját, ami magába foglalja a Sertoli sejteket és spermatogén sejteket: csírasejteket, spermatogóniumokat, spermatocitákat, spermatidákat valamint a spermiumokat. A lamina basalistól, attól merőlegesen mértük az epithelium vastagságát, metszeténként 20-at. Az adatokat µm-ben fejeztük ki.

3.5.2.6. Sejttípusok meghatározása és kvantifikálása

A heretubulusok sejttípusainak vizsgálatakor pontozásos rendszert használtunk; 1 pont csírasejt, 2 pont spermatogonium, 3 pont elsőrendű spermatocita, 4 pont másodrendű spermatocita, 5 pont spermatida és 6 pont spermium. A pontozás során, a spermatogenézis legfejlettebb állapotát vettük figyelembe, így az adott madár minimum 1, maximum 6 pontot kaphatott. Az elemzésre szánt

képek 400×-os nagyítással készültek, majd ezeket digitálisan 100%-osan felnagyítottuk az ImageJ programmal, valamint a szoftver „SHARPEN”, azaz élesítő menüjét/parancsát alkalmaztuk a képek további finomításához.

3.5.3 A mellékvese morfológiai és morfometriai vizsgálata

Boncoláskor mindkét mellékvesét kiemeltük és fixáltuk, majd paraffinba beágyaztuk azokat, de a következő vizsgálatainkban csak a bal oldali szervet használtuk fel. Ezt követően a mellékveséket lemetszettük, megfestettük és elvégeztük rajtuk a különböző morfológiai és morfometriai vizsgálatokat.

3.5.3.1. A mellékvese interrenalis és adrenalis hányadosának vizsgálata

A mellékvese interrenalis és adrenalis állományának területi eloszlását és szezonális változását a kettő hányadosával fejeztük ki. Az említett területek könnyen elkülöníthetőek, azok eltérő festődése miatt; az interrenalis állomány pirosra, míg az adrenális állomány kékre festődött. Állatonként két metszet teljes állományát mértük meg, s az adatokat μm^2-ben fejeztük ki.

3.5.3.2. Az interrenalis állomány 3 zóna sejtmagméretének a vizsgálata

Előzetes megfigyeléseink alapján a seregély mellékvese interrenalis állománya morfológiailag 3 zónára különíthető el. Ezek nem mutatnak egysíkú szabályos elhatárolódást, mint az emlősök esetében, ugyanakkor a zónák egymástól való megkülönböztetése egyértelműnek mutatkozott. A HE festődés során a sejtmag sötétkék-feketére festődött így könnyen elkülöníthetővé vált a világos piros színű citoplazmától. Állatonként 2 metszetről határoztuk meg az interrenalis állomány 3 zónájának sejtmagméretét, területenként 40-40 mag mérésével. Az adatokat μm^2-ben adtuk meg.

3.6. Az agy szövettani vizsgálata

A dekapitált állatok agyát 24 órán át 4 %-os formalinban fixáltuk, amit 48 órás 10 %-os cukros KPBS kezelés követett. Ezután az agyakból 30 µm vastag coronalis síkú sorozatmetszeteket készítettünk Reichert fagyasztó mikrotómon. A szeleteket a további felhasználásig fagyállóban, -20 ºC-on tároltuk fagyálló folyadékban. A KPBS oldat összetétele a következő volt: 1 litert desztilált vízben 0,45 g KH_2PO_4, 2,908 g K_2HPO_4 és 9 g NaCl. A fagyálló folyadék összetétele az alábbi volt:

0,79 g $NaH_2PO_4 \times H_2O$, 6,80 g $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$, 500 ml DEPC víz, 300 ml etilénglikol, 200 ml glycerin.

3.6.1. A gonadotropin-releasing hormon-I (GnRH-I) és az aromatáz enzim (ARO) expressziójának vizsgálata immuncitokémiai módszerrel

GnRH-I sejttesteket és rostokat a preopticus area-ban (POA), míg a terminális rostozatot az eminentia medianaban (EM) vizsgáltuk. A POA terület beazonosításához a tractus septomesencephalicus (TrSM) elhelyezkedését vettük figyelembe. Innen számítva állatonként 2 egymást követő metszetet használtunk az adott terület vizsgálatához. Az EM rostozatának értékeléséhez állatonkét ugyancsak 2 metszetet vizsgáltunk (Deviche et al. 2006).

Az ARO immunreaktivitást a POA/POM területen vizsgáltuk, ami magába foglalja a TrSM és a commissura anterior (CA) közötti részt (Wacker et al. 2010). Az agyszeletek közötti távolság 120 µm és állatonként 5-6 szeletet használtunk.

A szezonálisan aktiválódó GnRH és ARO sejtek kimutatását immuncitokémiával végeztük. Elsődleges antitestként a csirke GnRH-I ellen nyúlban kifejlesztett ellenanyagot (1:1000, Dr. J. R. Millam, Davis, California, USA jóvoltából) valamint fürj ARO ellen nyúlban kifejlesztett poliklonális ellenanyagot (1:1000, Dr. N. Harada, Fujita, Japan jóvoltából) használtunk. A két antigén expresszióját eltérő szövetmintákon és reakcióban vizsgáltuk. Az immuncitokémiai reakció standard avidin-biotin-peroxidáz (Vector, Burlingame, CA, USA) módszerrel történt. A fagyálló folyadék kimosása és az inkubációk közötti mosások KPBS pufferrel történtek (2-3×10 perc) szabadon úszó metszeteken. A szöveti peroxidázok ellen 3 %-os H_2O_2-dal 10 percig, a nem specifikus fehérje elkerülésére pedig 2 %-os kecske szérummal (NGS) 1 órán keresztül inkubáltuk a szöveteket a primer ellenanyag előtt. Az NGS után az elsődleges antiszérumot 4ºC-on 48 órán keresztül hagytuk a metszeteken. Ezt követte a nyúl immunoglobulin ellen kifejlesztett másodlagos ellenanyag, a kecskében termelt és biotinnal konjugált antitest (1:500, Vector). A szekunder szérum kimosása után következett a biotin-avidin-tormaperoxidáz complex 1 órás inkubációja, majd az előhívás. Kromogénként 3,3'-diaminobenzidine tetrahidrochloride-ot (DAB, 0,5 mg/ml, Sigma), szabadgyök-donorként 0,03 %-os H_2O_2-t használtunk, a reakció erősségét 1,5 %-os nikkel-ammónium-szulfáttal intenzifikáltuk. Az előhívás után a metszeteket zselatinos tárgylemezre húztuk fel, felszálló alkoholsorban dehidráltuk, majd Depex fedőanyaggal fedtük.

3.6.1.1. Kvantitatív képelemzés

GnRH-I esetében 3 paramétert vizsgáltunk: GnRH-I immunreaktív (GnRH-I-ir) sejttestek nagyságát POA-ban, GnRH-I-ir sejttestek és rostok integrált denzitását (teljes GnRH-I denzitás) a POA-ban, valamint a GnRH-I-ir rostok integrált denzitását az EM-ban.

A GnRH-I-ir sejtek méretének kiértékeléséhez Nicon Eclipse E600 mikroszkópra (Nikon Corporation, Japan) szerelt SPOT RT kamerával (Diagnostic Instruments, Inc., IL) digitalizáltuk az anyagot. Állatonként 40 sejtet mértünk vagy az összeset ott ahol 40-nél kevesebb sejt volt. 600× -os nagyítású képeket SPOT Advanced szoftverrel analizáltunk, s a végén az adatokat μm^2-ben adtuk meg.

A POA GnRH-I-ir sejttestek és rostok integrált denzitásának kiértékeléséhez Nikon OPTIPHOT-2 mikroszkópra (Nikon Corp., Japan) szerelt AVC-D7CE kamerával (Sony, Tokyo, Japan) digitalizáltuk az anyagot. A semi-quantitatív denzitometriás mérést az NIH 1.59 szoftverrel végeztük az alábbi módon. Minden esetben azonos megvilágítási beállításokat használtunk. A beolvasott képeket invertáltuk, az autoradiográfiás szemcsék sűrűségének megmérése 256 fokozatú szürkeségskálán történt a program „Integrált Denzitás" funkciójával. A GnRH-I immunreaktivitásának megméréséhez egy 396 µm × 218 µm-es téglalapot fektettünk a POA területére 100× nagyításnál. Az agyszelet mindkét olalán mért értékeket átlagoltuk és a továbbiakban ezzel jellemeztük az adott állatot. Az optikai denzitás-adatokat mértékegység nélkül, I.D. jelöléssel adtuk meg.

Az EM immunpozitív GnRH-I rostjainak denzitását a fent leírt képanalizáló rendszerrel vizsgáltuk és digitalizáltuk. A szövetek tárgylemezre való felhúzása után – az olyan keskeny kiszögelést mutató szöveti struktúrák, mint pl. az EM - eltérő alakzatot mutathatnak. Emiatt a terület behatárolását manuálisan végeztük, azaz minden esetben körberajzoltuk az EM-t. Az adott terület denzitását és terület méretét elosztva megkaptuk az 1 μm^2-re jutó denzitást. Hasonlóan az előzőhöz az adatokat átlagoltuk és állatonként egy értéket használtunk fel.

Az immunreaktív ARO sejtek (ARO-ir) számának a kiértékeléséhez OLYMPUS DP70 mikroszkópra szerelt OLYMPUS BX51 kamerával digitalizáltuk az anyagot. A sejtszámoláshoz az ImageJ programot használtuk. A digitalizált látótereket azonos mérési küszöbérték mellett és azonos leolvasási kerettel (405 µm × 656 µm) mértük meg mindkét oldalon, 100× nagyítás mellett. Az így kapott mérési eredményt átlagoltuk, és a továbbiakban ezzel az adattal jellemeztük az adott állat ARO aktivitását.

Minden esetben a kiértékelést végző személy "vakon" kezelte a mintákat, azaz nem ismerte azok eredetét.

3.7. A magatartás vizsgálatok

Az ének hangfelvétele hordozható felvevő (Sony MZ-R900) és parabolára szerelt csőmikrofon (AV-JEFE AVL 600) segítségével történt. A felvételek készítése az adott időszakokban 6 egymást követő napon folytak reggel 6:00 és 9:00 között. A felvételek digitalizált módban készültek, amelyeket később az *AviSoft-SASLab* Light szoftverrel értékeltük ki. Az átlagos ének hosszt mértünk, mint vizsgálati paramétert. Eens (Eens 1997) szerint ez az időintervalum minimum 5 másodperc hosszú, továbbá nem tartalmaz 1,5 másodpercnél hosszabb szüneteket. A seregély énekre jellemző 4 énektípust sikerült megfigyelnünk (**M4.**).

Az ének mellett a hímek udvarlási viselkedését is vizsgáltuk. Két mozgásmintázatot figyeltünk meg; 1. szárny rotálás (a faroktollak lefelé, a csőr felfelé hegyezve, felborzolt torok tollak a szárnyak pedig vízszintesen forognak előre), 2. szárny villantás (hasonlóan az előzőhöz; felborzolt torok tollak valamint felfelé irányuló csőr, a szárnyak viszont gyors és ismétlődő oldalirányban történő mozgása).

3.8. Adatok feldolgozása

A statisztikai értékeléshez a Microsoft Excel ’97 és a STATISTICA 6.0 (Tulsa, OK, USA) szoftvercsomagot használtuk. Valamennyi mérés során kapott eredményeket egyszempontos variancia-analízissel (ANOVA) vizsgáltam és szignifikancia esetén ($p \leq 0,05$) elvégeztem a post-hoc (Newman-Keuls) összehasonlítást. Pearson féle korrelációt alkalmaztunk annak érdekében, hogy meghatározzuk a különböző eredmények közötti összefüggéseket. Azonban a viselkedés és a szexuálszteroidok/ARO aktivitás összehasonlításánál csoportátlagokkal - s nem az egyéni átlagokkal - számoltunk, mert az előbbinél más madarakat használtunk fel. Az adatokat átlag ± SEM.-ban fejeztük ki.

4. EREDMÉNYEK

4. 1. A szaporodást befolyásoló klimatikus tényezők és azok éves alakulása

Magyarország éghajlata a szoláris éghajlati felosztás szerint mérsékelt, földrajzi elhelyezkedése miatt mentes a túlzott éghajlati szélsőségektől. A csapadékhozam tekintetében jelentős, hőmérséklet alakulása esetében pedig kisebb az évek közötti változékonyság. A nappalok hosszának szezonális változása az évek között viszont meglehetősen állandónak mondható.

A legtöbb csapadék a koranyári hónapokban hullik, a legkevesebb pedig januárban és februárban. A leghidegebb hónapunk január, de középhőmérséklete és általában a tél középhőmérséklete évről évre változékonyan alakul. A nyár hőmérséklete valamivel kiegyenlítettebb. A legmelegebb hónapunk a július. A nappalok hossza júniusban éri el maximális (kb. 16 óra), míg decemberben a minimális (kb. 8 óra) értéket. Az ország legdélebbi és legészakibb pontja között az eltérés közel fél óra az utóbbi javára. (**M2., M3.**).

A seregélyek udvarlásakor, majd fészekrakáskor az éves átlaghőmérséklet 10 °C, az átlagos csapadékhozam pedig 40 mm körül alakul. A fiókák kelésekor a két paraméter csak kis mértékben nő meg. Fotorefrakteritás idején (augusztus) viszont az átlaghőmérséklet már eléri a 20 °C-t, az átlagos csapadékmenniység pedig a 60 mm körüli értékeket (**M2.**).

A tavaszi megérkezéskor a nappalok hossza még csak 11 óra körüli, de az udvarlás, valamint a fészekrakás idején eléri a 13 órás értéket. A fiókák kelésekor a nappali megvilágítás tovább nő és már meghaladja a 14 órát. Az augusztusi fotorefrakteritás idején valamelyest visszaesik, értéke ekkor 13-14 óra között mozog (**M3.**).

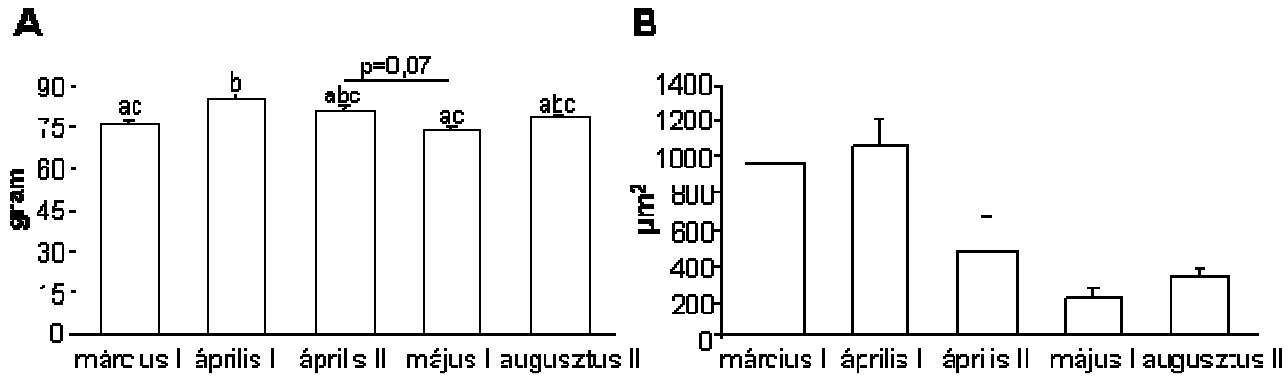
4. 2. A kísérleti állatok általános kondíciója

A testtömeg alakulása szezonálisan változott a vizsgált madárfajban [$F(4, 26)=5{,}56$; $p<0{,}01$; **2. A. ábra.**]. Méréseinkből kiderült, hogy a tavaszi megérkezés után (április I) a hímek testtömege számottevően megnőtt (76±2,3 g-ról 85±2,3 g-ra, $p<0{,}05$). A kotlás idején (április II) végig megőrizték megnövekedett testtömegüket, a "súlyfölösleget" csak a fiókák kikelése utáni napokban adták le (május I, 74±1,2 g; $p<0{,}05$). Az őszi vándorlás ellőtt (augusztus II) a testtömegben növekvő tendenciát figyelhetünk meg (79±0,8 g).

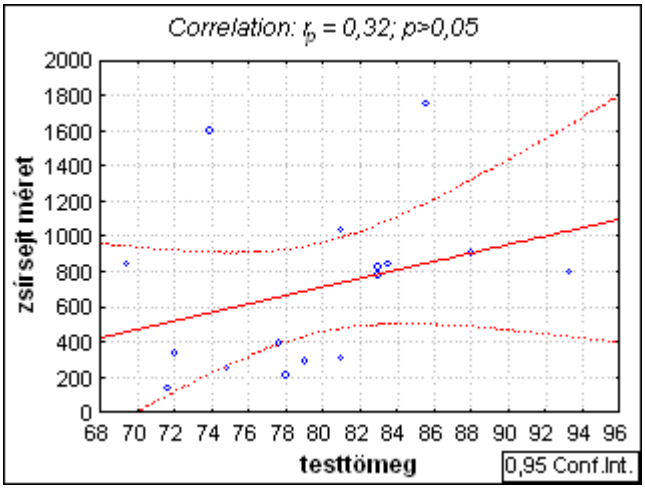
A zsírsejtek mérete szignifikánsan változott a vizsgált időszak alatt [$F(4, 12)=3{,}33$, $p<0{,}05$; **2. B. ábra.**], de a csoportok meglehetősen nagy szórásértékei miatt a post hoc tesztben nem találtunk különbséget közöttük. Maximális értéket április első felében (április I, 1018±152 μm^2), míg minimális értéket májusban (május I, 191±55 μm^2) mértünk. Nyár végén (augusztus II), feltehetőleg

a fokozott táplálékfelvételnek köszönhetően a zsírsejtek mérete növekvő tendenciát mutatott (299±54 μm^2).

Annak ellenére, hogy a zsírsejtek mérete és a testtömeg hasonló változást mutatott az éves ciklus során, a kettő mennyisége nem korrelált szignifikánsan (r_P=0,32; p>0,05; **3. ábra.**).



2. ábra. A hím seregélyek testtömegének (**A**) és zsírsejtek méretének (**B**) változása a fotoszenzitív (március I), az udvarlás (április I), a kotlás (április II), a fiókák kelése (május I) valamint a fotorefrakter (augusztus II) fázisok során (átlag ± SEM). Az eltérő *a*, *b*, *c* felső indexek azt jelölik, hogy azok szignifikánsan különböznek (egyszempontos ANOVA és Newman-Keuls post hoc analízis, p<0,05).



3. ábra. A seregélyek testtömegének és a zsírsejtek méretének korrelációja.

4.3. A GnRH expressziójának szezonális változása

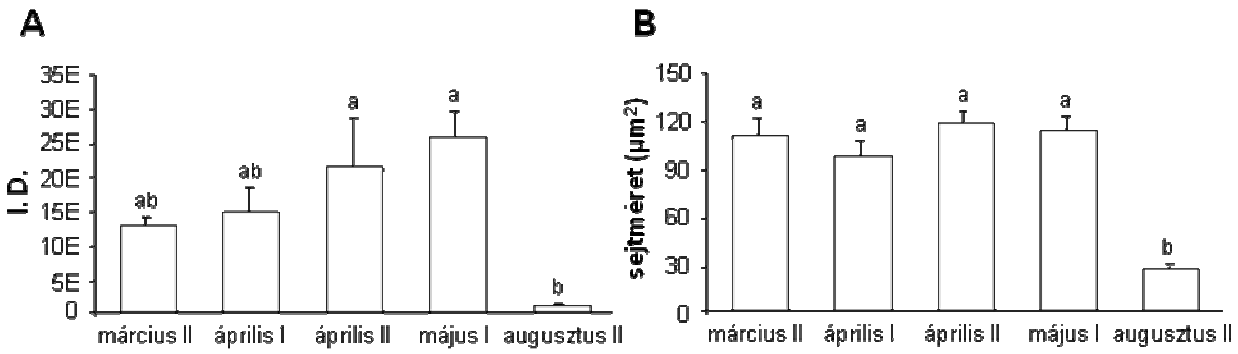
A gonadális maturáció legfontosabb központi szabályozója a hypothalamikus GnRH. Vizsgálatainkban immuncitokémiával határoztuk meg annak expresszióját a POA-ban és az EM-ban. Míg a POA-ban sejttesteket és rostokat találtunk, addig az EM-ban kizárólag csak rostokat

figyeltünk meg. Mindkét területen a szezonális változások rendkívül feltűnőek voltak; a tavaszt erős, az augusztus végét pedig szinte alig mérhető immunfestődés jellemezte.

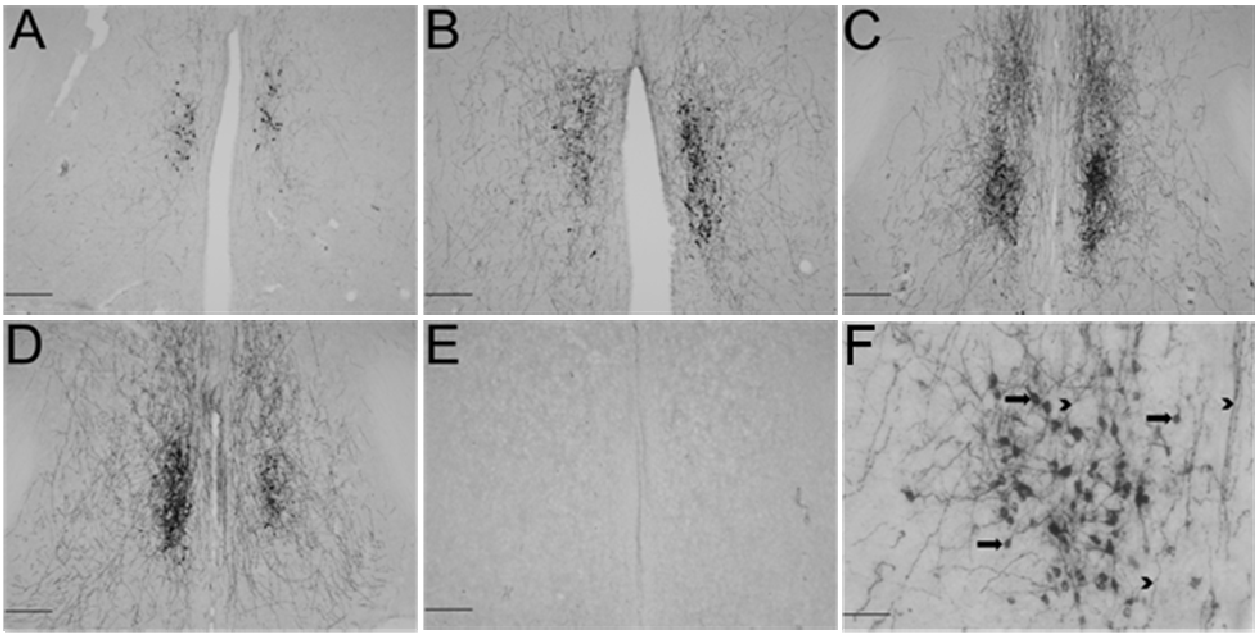
4.3.1. A GnRH-I-ir sejtek és rostok szezonális változása a POA-ban

A GnRH-I-ir sejtek és rostok denzitása a POA-ban szignifikáns változást mutatott az éves ciklus során [$F(4, 15)=5,13$; $p<0,05$; **4. A. ábra.**]. A tavaszi időszakban az integrált denzitás növekvő tendenciára utalt, de a post-hoc teszt elvégzése után szignifikáns különbséget nem találtunk (március II – május I; 12364,4±1303,5 - 25344,5±3846,1). Annak ellenére, hogy nem találtunk szignifikáns különbséget az összesített denzitásban (sejttest + rost), a **5. ábrán** jól látható, hogy a rostok festődése jelentősen megnőtt a szexuálisan aktív időszaka alatt. Sajnos a sejttestek és a rostok különválasztása technikailag lehetetlennek bizonyult, így a kettő együtt való meghatározása elfedhette a valós különbségeket. Ugyanakkor augusztusban csak néhány gyengén festődő sejtet figyeltünk meg (970,4±160,4; $p<0,05$).

A GnRH-I-ir sejttestek mérete szignifikánsan változott a szezon során [$F(4, 15)=20,06$; $p<0,001$; **4. B. ábra.**]. Annak ellenére, hogy a korai áprilisi hónapban (április I; 95,9±9,6) csökkenő tendencia mutatkozott a márciusihoz (március II; 109,1±10,3) képest, az egész tavaszi időszakra nézve nem találtunk szignifikáns eltérést. Az augusztusi madaraknál ugyanakkor szignifikánsan csökkent a GnRH-I-ir sejttestek mérete (25,4±2,7$p<0,001$). A sejttestek nem csak méretükben bizonyultak nagyobbnak a szexuálisan aktív időszakban, hanem az immunfestődés intézitása is erősebb volt ebben a periódusban a fotorefrakterhez képest. A tavaszi időszakban multipoláris vagy bipoláris sejteket jellemezték az áreát.



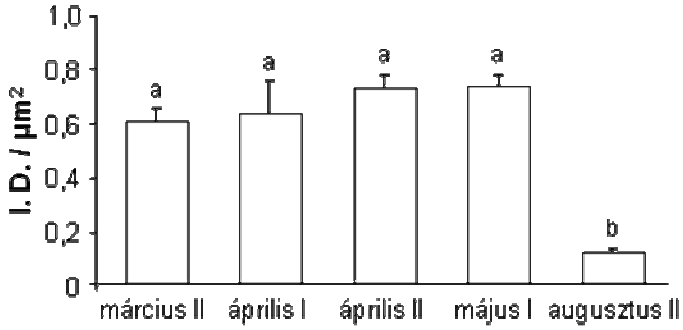
4. ábra. A GnRH-I-ir sejtestek és rostok integrált denzitásának (**A**) és a GnRH-I-ir sejttestek méretének (**B**) változása a POA-ban, a fotoszenzitív (március I), az udvarlás (április I), a kotlás (április II), a fiókák kelése (május I) valamint a fotorefrakter (augusztus II) fázisok során (átlag ± SEM). Az eltérő *a, b* felső indexek azt jelölik, hogy azok szignifikánsan különböznek (egyszempontos ANOVA és Newman-Keuls post hoc analízis, $p<0,05$).



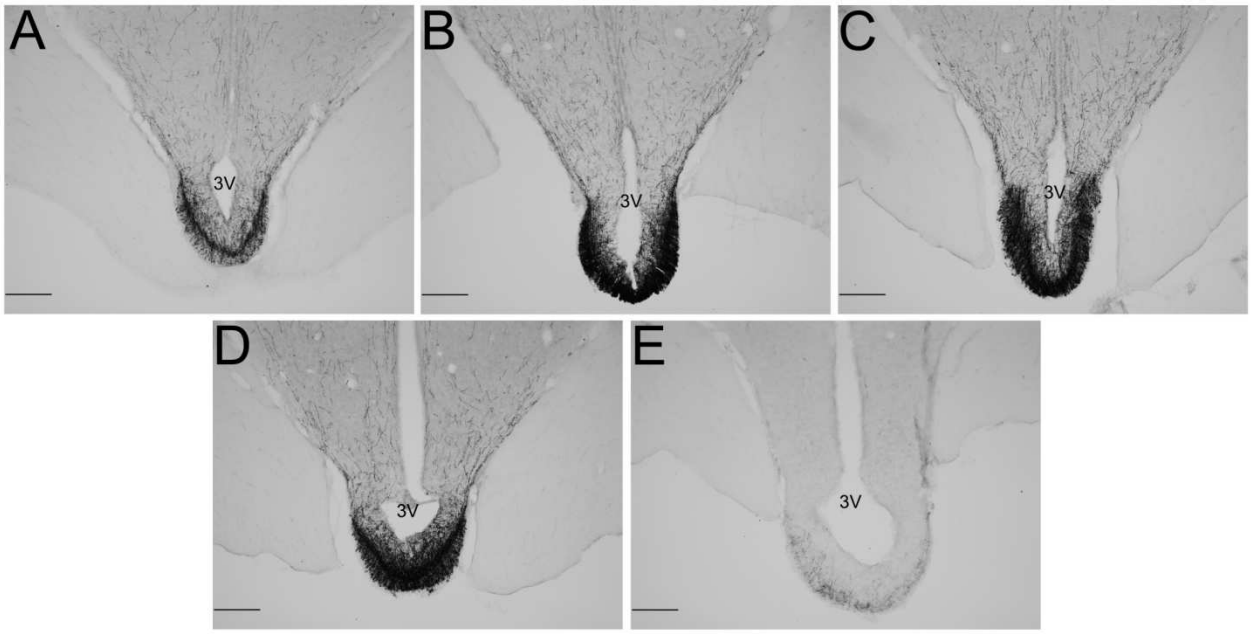
5. ábra. A POA GnRH-I-ir sejttestjeit és rostjait ábrázoló mikrofényképek kisebb nagyítás mellett (**A-E**, 100×). A sejttestek mérsékelt, a rostok alacsony immunreaktivitás figyelhető meg a fotoszenzitív (**A**, március II) madarakban. Ezt követően erős immunfestődés jellemezte mind a sejttestet, mind a rostot (**B**, április I; **C**, április II; **D**, május I). A fotorefrakter madarakban a sejttest és a rost jelenléte minimális volt (**E**, augusztus II). A léptéket jelző szakasz: *200µm.* A nagyobb nagyítású képen (**F**, 400×), szexuálisan aktív madár nagyméretű sejtjei figyelhetőek meg, erősen festődő dendritekkel és jelöletlen magokkal. A nyilak a sejttesteket, a nyílvégek pedig a rostokat jelölik. A léptéket jelző szakasz: *50 µm.*

4.3.2. A GnRH-I-ir rostok szezonális változása az EM-ban

GnRH-I-ir rostokat figyeltünk meg az EM belső és külső rétegében, de az utóbbiban volt jelen nagyobb mennyiségben. Az EM GnRH-I-ir rostjainak az integrált denzitása szignifikánsan változott a vizsgált időszak alatt [$F(4, 13)=18{,}703$, $p<0{,}001$; **6. ábra.**]. Márciusban viszonylag kevés rost figyelhető meg a tavaszi időszak többi időpontjaihoz képest, denzitásában növekvő tendencia figyelhető meg a március II – május I (0,59±15-0,73±13) időszakban (**7. ábra.**). Ennek ellenére az egyszempontos ANOVA-val nem találtunk szignifikáns különbséget a tavaszi időszakban. Augusztusban viszont szignifikánsan csökkent a GnRH-I-ir rostok mennyisége (0,12±0,003; $p<0{,}001$).



6. ábra GnRH-I-ir rostok integrált denzitásának változása a EM-ban, a fotoszenzitív (március I), az udvarlás (április I), a kotlás (április II), a fiókák kelése (május I) valamint a fotorefrakter (augusztus II) fázisok során (átlag ± SEM). Az eltérő *a*, *b* felső indexek azt jelölik, hogy azok szignifikánsan különböznek (egyszempontos ANOVA és Newman-Keuls post hoc analízis, $p<0,05$).



7. ábra. Az eminentia mediana (EM) GnRH-I-ir rostjait ábrázoló mikrofényképek. Viszonylag alacsony rost denzitás jellemzi a fotoszenzitív (**A**, március II) madarakat, ugyanakkor jelentős mennyiség figyelhető meg az április I (**B**), április II (**C**) és május II (**D**) időszakokban. Augusztus végén (**E**, augusztus II) minimális mennyiségű rostszál. A 3V a III.-ik agykamrát jelöli. A léptéket jelző szakasz: *200µm*

4.4. A here morfológiai változásai

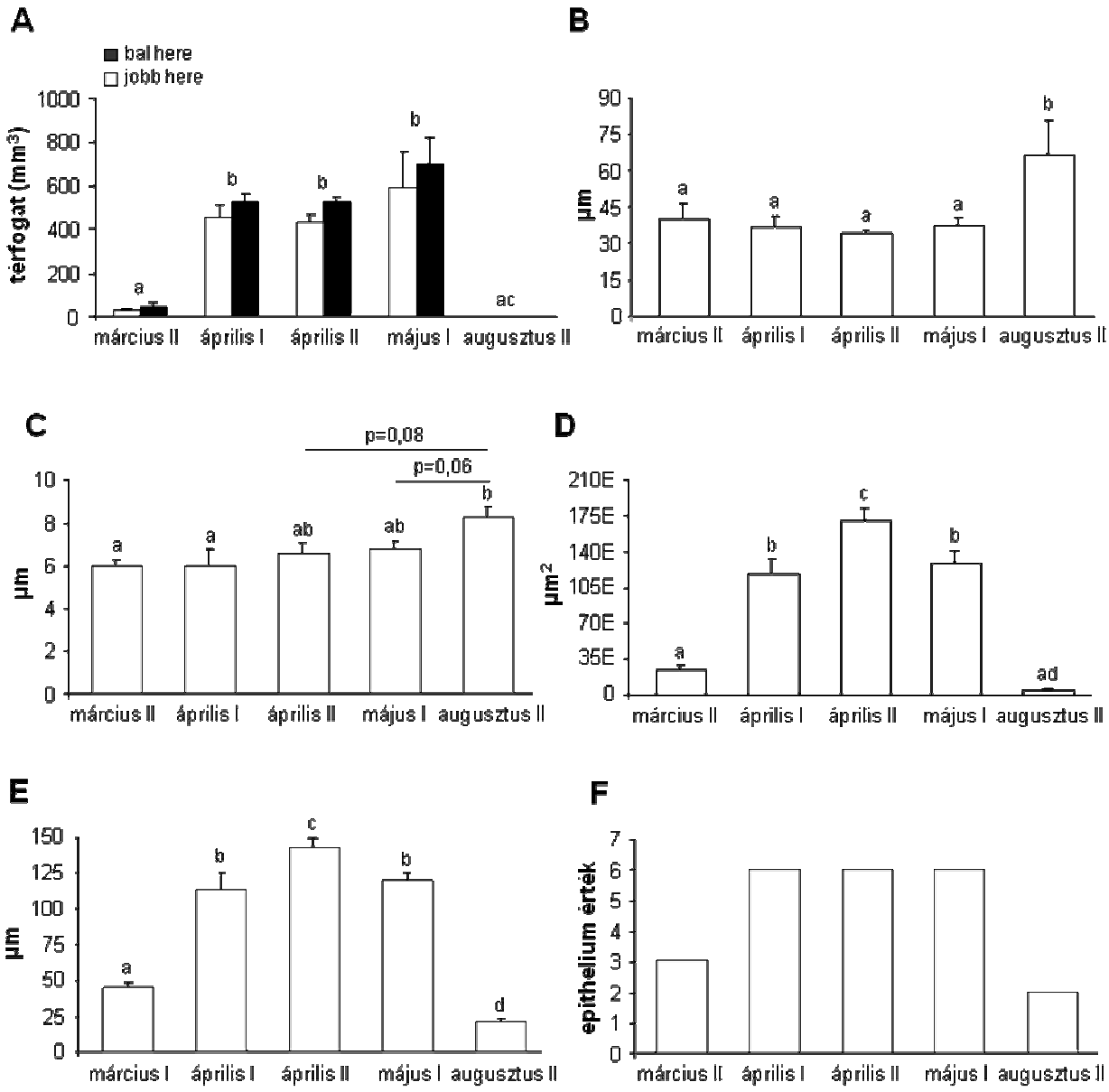
A here méretében és színében, szabad szemmel is jelentős eltéréseket tapasztaltunk vizsgálataink során. Elipszoid alakú, ennek ellenére a bal here hosszúkásnak, a jobb here inkább gömbölyűnek mondható. A színe a szaporodási időszak előrehaladtával egyre világosabbá (sárgás-fehér) vált, majd a refrakter állapot beálltával feketére váltott. Egyedeken belül a bal here az esetek többségében nagyobbnak bizonyult.

4.4.1. A here térfogata

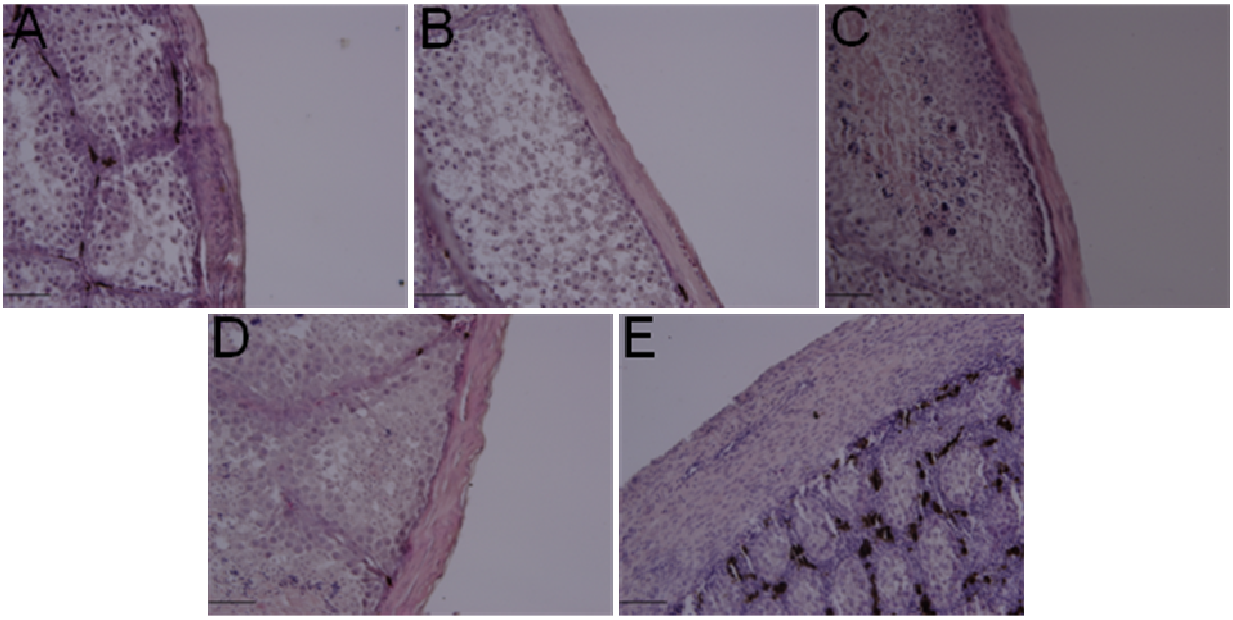
Az egy szempontos ANOVA elvégzése után, az öt csoport között szignifikáns eltérést figyeltünk meg a here térfogatában [bal here: $F(4, 13)=23,41$, $p<0,001$; jobb here: $F(4, 11)=13,26$, $p<0,001$; **8. A. ábra.**]. Március végén a herék (bal here: 47,2 ± 14,4 mm^3; jobb here: 35,1 ± 3.0 mm^3) viszonylag kis méretűek, amit április első felében egy jelentős növekedés követ (bal here: 524,8 ± 40,8 mm^3, $p<0,001$; jobb here: 455,5 ± 56,2 mm^3, $p<0,05$). A hónap második felében az értékek megközelítőleg azonosak maradtak az április I csoporttal. A herék májusban érték el a maximális méretüket (bal here: 698,5 ± 122,7 mm^3; jobb here: 590,5 ± 164,6 mm^3). A szexuálisan inaktív augusztus hónapban a here mérete szignifikánsan csökkent (bal here: 3,4 ± 1,3 mm^3, $p<0,001$; jobb here: 2,4 ± 0,7 mm^3, $p<0.001$). Ez a drámai méretbeli csökkenés 200×-sa a májusihoz képest.
A POA GnRH-I-ir integrált denzitása és a jobb here térfogata között csak tendencia mutatkozott a korrelációra ($r_p=0,50$; $p=0,09$; **10. A. ábra.**), a bal here térfogatával viszont szignifikánsan korrelált ($r_p=0,54$; $p<0,05$; **10. B. ábra.**).

4.4.2. A tunica albuginea vastagsága

A hím seregélyek tunica albuginea vastagsága szezonális változást mutatott a vizsgált időszakban [$F(4, 18)=2,97$, $p<0,05$; **8. B. ábra.**]. A tavaszi négy csoport átlagértékei meglehetősen egyformának bizonyultak (34±1,58-40±6,78 µm), szignifikáns különbség nem mutatkozott közöttük. Augusztus végén viszont már az új tunica albuginea képződése és a még meglévő „régi" tunica miatt a tok vastagsága jelentős mértékben megnőtt (66±14 µm; $p<0,05$; **9. A. – E. ábra.**). A külső öreg réteg színében is eltért az újonnan képződő rétegtől, továbbá szerkezete is már kevésbé volt homogén.



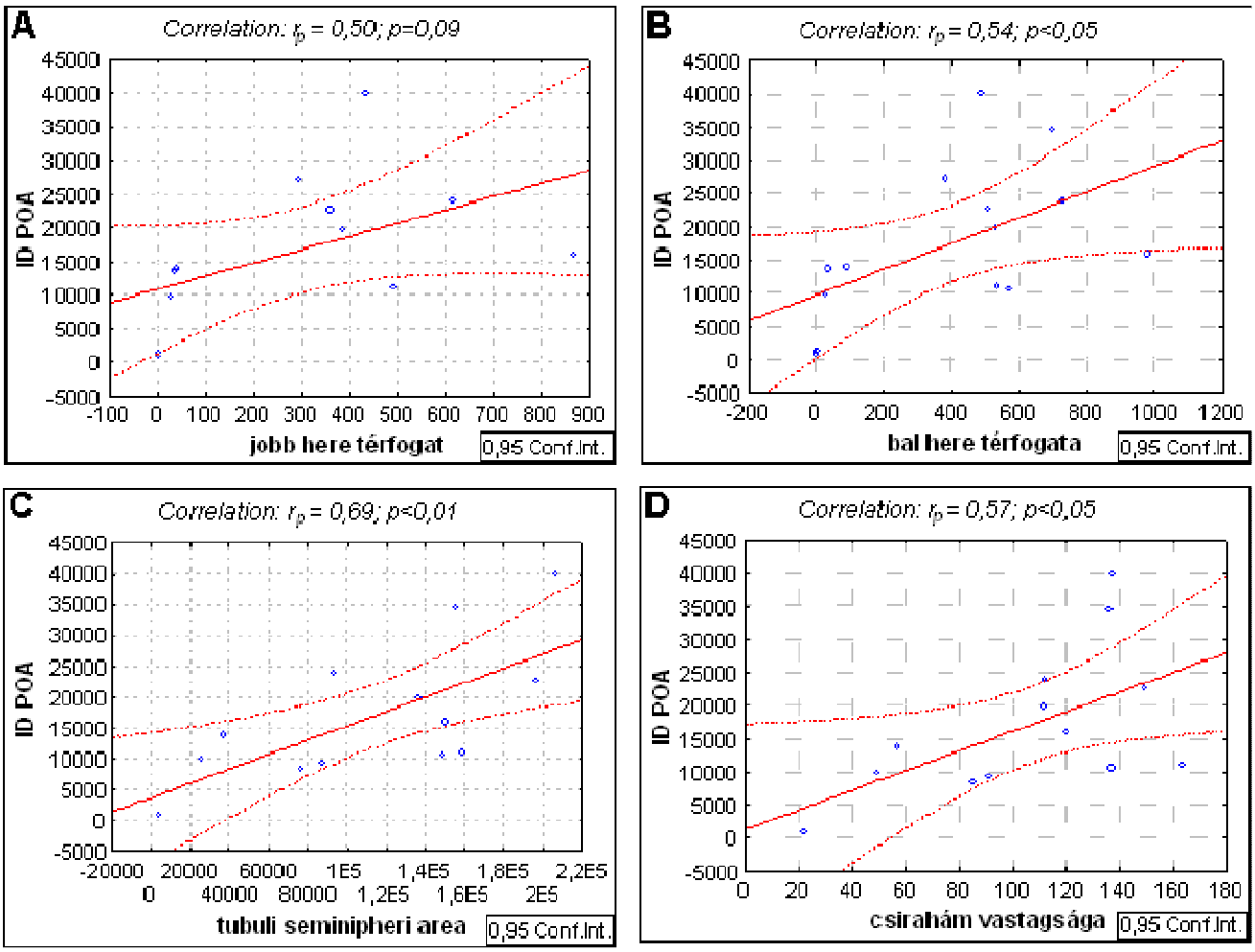
8. ábra. A herék morfológiájának szezonális változása; a bal és a jobb here térfogata (**A**), a tunica albuginea vastagsága (**B**), az interstitium vastagsága (**C**), a herecsatornácskák keresztmetszetének területe (**D**), a germinális epithelium vastagsága (**E**) és a germinális epithelium minőségi összetétele (**F**) (átlag ± SEM). Az eltérő *a*, *b*, *c*, *d* felső indexek azt jelölik, hogy azok szignifikánsan különböznek (egyszempontos ANOVA és Newman-Keuls post hoc analízis, $p<0,05$).



9. ábra. A here tunica albuginea-t ábrázoló mikrofényképek. Tavasszal (**A**, március II; **B**, április I; **C**, április II; **D**, május I) a tunica albuginea viszonylag vékony, fotorefrakter madarakban (**E**, augusztus II) az újonnan képződő réteg miatt a vastagsága jelentősen megnő. A léptéket jelző szakasz: *200µm*

4.4.3. Az interstitium vastagsága

Az interstitium vastagsága folyamatosan nőt a vizsgált időszak alatt, de kiugróan magas értéket csak augusztusban mértünk [$F(4, 20)=3,07$, $p<0,05$; **8. C. ábra.**]. A tavaszi időszak különböző időpontjai között nem találtunk szignifikáns változást (5,94±0,3-6,8±0,3 µm; $p>0,05$). Ugyanakkor, a március II és április I időszakokban mért értékek szignifikánsan különböztek ($p<0,05$), míg az április II ($p=0,08$) valamint május I ($p=0,06$) csoportok csak szignifikanciát közelítő értékeket mutattak az augusztusi (8,3±0,5 µm) csoporttal összehasonlítva. Az utóbbinál az interstitium erősen pigmentált, a terület nagy hányadát pigmentsejtek képezik.

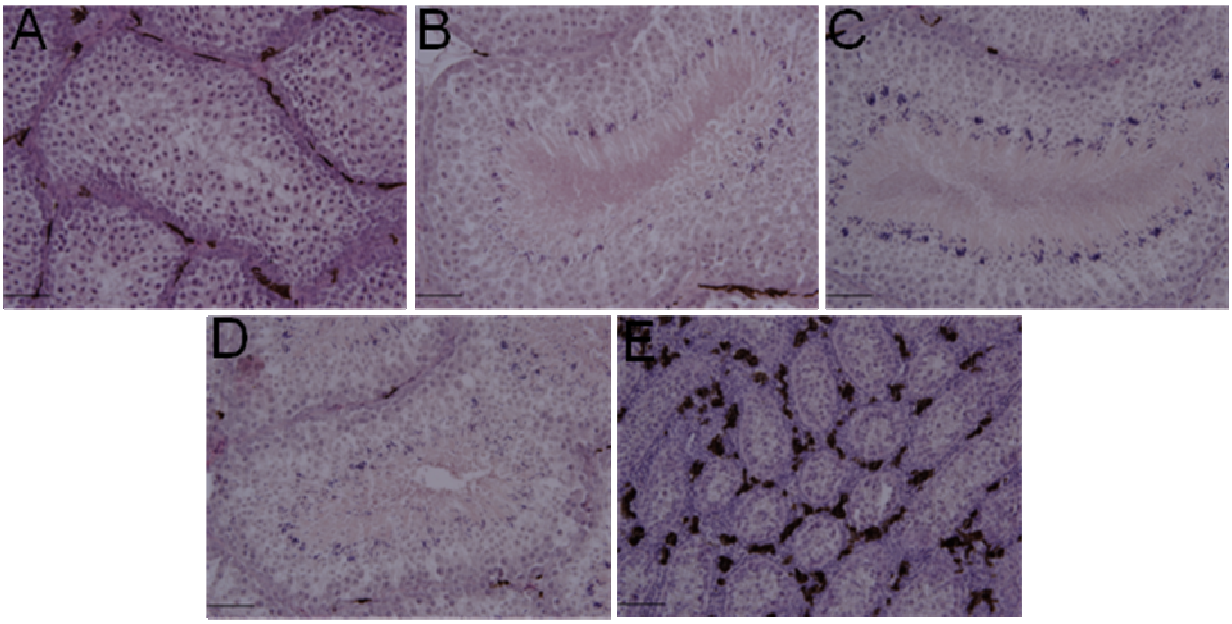


10. ábra. A POA GnRH-I-ir integrált denzitásának korrelációja a jobb (**A**) és bal (**B**) here térfogatával, a tubuli seminiferi areával (**C**), a germinális epithelium vastagságával (**D**)

4.4.4. A heretubulusok keresztmetszetének területe

A heretubulusok keresztmetszetének területe jelentős mértékben változott a vizsgálat során [F(4, 19)=37,26, p<0,001; **8. D. ábra.**]. A viszonylag alacsony márciusi értékeket (24195,8± 4117,9 µm^2) követően a heretubulusok keresztmetszete nagy mértékben megnőtt (április I: 117301,2±15014,7 µm^2; p<0,001), s kotlás idején (április II: 169081,4±13964,9 µm^2; p<0,05) érte el a maximumot. Május elején kisebb mértékben, de szignifikánsan csökkent a heretubulusok keresztmetszete (128509,8±12452,2 µm^2; p<0,05). Ezt követően mérete drasztikusat esett (4768,577±689,557 µm^2; p<0,001) és a minimális értéket a késő nyári időszakban (augusztus II) érte el. A tubulusok keresztmetszetének az alakja is jelentősen változott a ciklus során; tavasszal inkább elnyújtott, nyár végén pedig gyakran kerek formában figyelhető meg (**11. ábra.**).

A tubulusok keresztmetszetének a területe és a POA GnRH-I-ir integrált denzitása között erős korrelációt mértünk (r_p=0,69; p<0,01; **10. C. ábra.**).



11. ábra. Here tubulusok keresztmetszetét ábrázoló mikrofényképek. A fotoszenzitív (**A**, március II) madaraknál az elsődleges spermatociták, míg április I (**B**), április II (**C**) és május I (**D**) időszakokban a spermiumok a legfejletteb spermatogén sejtek. Augusztus végén (**E**, augusztus II) a spermatogóniumok a legfejlettebb spermatogén sejtek. A léptéket jelző szakasz: *200µm*

4.4.5. A germinális epithelium vastagsága

A heretubulusok keresztmetszetének általában szabálytalan alakja miatt a germinális epithelium vastagsága egy tubuluson belül is gyakran változott. Ezért a méréseknél tubulusonként 4 hosszt határoztunk meg és igyekeztünk minden egyes tubulusnál ugyanazt a mintavételi sémát alkalmazni. A germinális epithelium vastagsága szignifikáns változásokat mutatott a vizsgált időszak alatt [$F(4, 19)=46{,}18$, $p<0{,}001$; **8. E. ábra.**]. A márciusi értékek viszonylag alacsonynak (45,07±3,92), de szignifikánsan magasabbnak bizonyultak az augusztusi csoporthoz képest (21,41±2,38; $p<0{,}05$). Mindkét áprilisi időszakban (113,14±12,92 – 142,79±6,34) az epithelium vastagsága jelentős növekedést mutatott a márciusihoz képest ($p<0{,}001$). A fiókák kelésekor (május I; 119,44±5,51) az epithelium vastagsága szignifikánsan lecsökkent ($p<0{,}05$). A legalacsonyabb értéket a késő nyári időszakban (augusztus II; 21,41±2,38; $p<0{,}001$) érte el.

Méréseink szerint a germinális epithelium vastagsága és a POA GnRH-I-ir integrált denzitása pozitívan korrelált ($r_p=0{,}57$; $p<0{,}05$; **10. D. ábra.**).

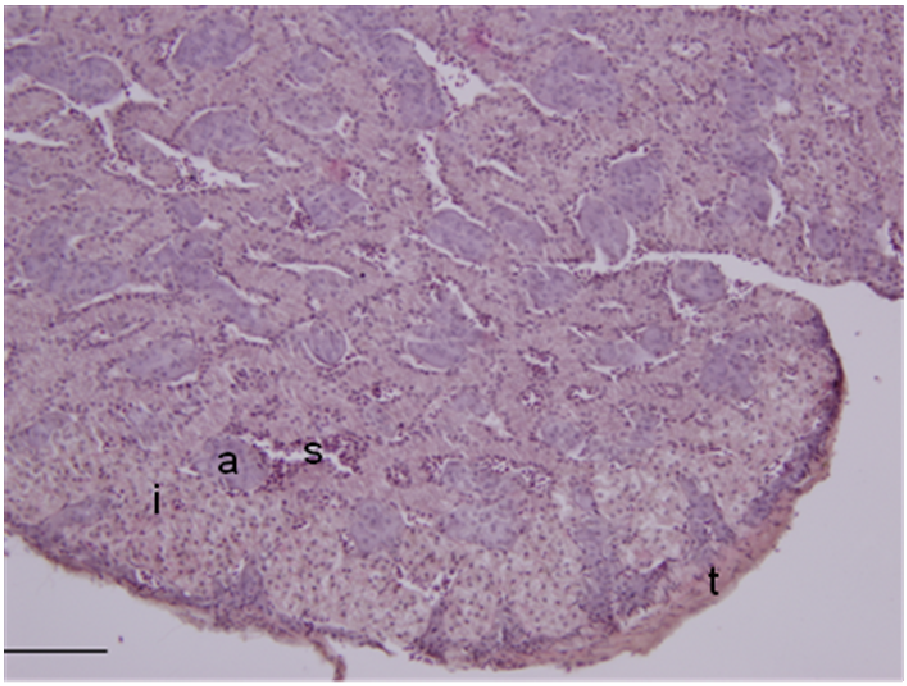
4.4.6. Sejttípusok meghatározása és kvantifikálása

A seregély herében nem csak mennyiségi, hanem igen jelentős minőségi változások zajlottak le a vizsgált időszakokban (**8. F. ábra.**). Márciusban laza néhány soros sejtréteget figyeltünk meg a

tubuluson belül, továbbá a legfejlettebb formának az elsődleges spermatocitákat találtuk. A következő 3 időszakban (április I, II, május I) a spermatogenézis minden stádiuma megtalálható volt, ugyanakkor a májusi csoportban (május I) nagymértékű összsejtszám csökkenést figyeltünk meg. Augusztusban, a tubulusok lumenében a sejtek mind mennyiségében, mind minőségében erőteljes hanyatlást mutattak. A fejlettebb sejtformák eltűntek, csak csírasejteket valamint spermatogóniumokat találtunk, 1-2 soros sejtrétegben elhelyezkedve.

4.5 A mellékvese morfológiai és morfometriai változásai

A seregély mellékveséje háromszögletű, sárgásbarna, páros szerv, amely a vese anterior lebenyéhez kapcsolódik. Igen kisméretű, ezért a szexuálisan aktív madarak heréje teljesen elfedi. A mellékvese központi része sinusokban gazdag, mely bő mennyiségben tartalmaz vörös vérsejteket.
A HE festés eredményeként a kéreg- és a velőállomány egymással keveredő kötegei - a piros eosinofil (interrenalis-kéregkötegek) és a kék basofil (adrenalis-velőkötegek) - könnyen elhatárolhatóvá váltak (**12. ábra.**). Az interrenalis sejtek párosával elhelyezkedve alkotják az interrenalis kötegeket. Ezek a kötegek a külső zónában gomba vagy patkó alakúak és hasonló szöveti szerkezetet mutatnak az emlősök mellékvesekéreg zona glomerulosa-jával (ZG). A külső zóna jellemzően sötétebb színe miatt is élesen elhatárolódik a belső kéregterületektől. Az alatta levő interrenalis köteg részek leginkább radiális lefutásúak, megnyúlt, oszlopos szerkezettel. Ez a középső zóna emlékeztet az emlősök mellékvesekéreg zona fasciculata-jára (ZF). Az interrenalis állomány belső elemei gyakran nehezen áttekinthető, rendezetlen kötegeket alkotnak. A szerv centrumában levő vérér sinusok mentén esetenként gócos elrendeződést mutatnak, s vizsgálatainkban ezt tekintettük az emlősökkel homológ zona reticularis-nak (ZR). A sejtmagokat apicalis és basalis pozícióban is megfigyeltük, zónáktól függetlenül (**13. ábra.**).



12. ábra. A seregély mellékvese szerkezete; i-interrenalis állomány (piros), a- adrenalis állomány (kék), s-sinus vörös vérsejtekkel és t-tok. A léptéket jelző szakasz: *100µm*

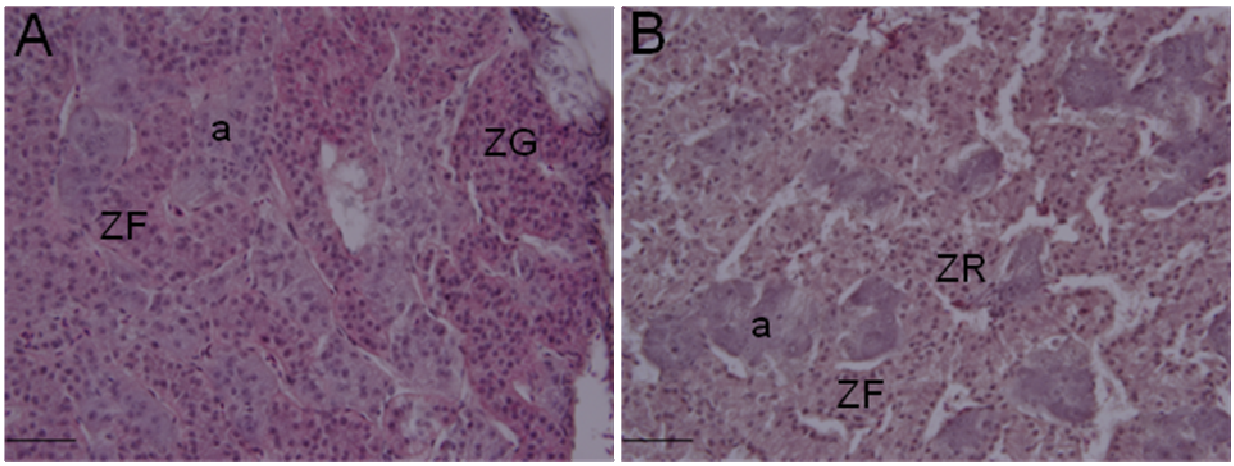
4.5.1. A mellékvese interrenalis és adrenalis hányadosának vizsgálata

A seregély mellékvese interrenalis/adrenalis állományának hányadosa a vizsgált időszakokban nem mutatott szignifikáns változásokat [F(4, 16)=2,33, p=0,09; **14. A. ábra.**]. Viszonylag magas értékeket mértünk a tavaszi megérkezést követően (március II; 2,83±0,10). A következő időpontban a hányados lecsökkent (április I; 1,93±0,16), amit egy folyamatosan növekedő tendencia követett a fészkelési időszak végéig (május II; 2,86±0,34). A nyár végi időszakban (augusztus II; 2,26±0,48) a hányados visszaesett az április I körüli értékre. Minden egyes metszeten a kéregállomány nagyobb területet foglalt el a velőállományhoz képest (**15. ábra.**).

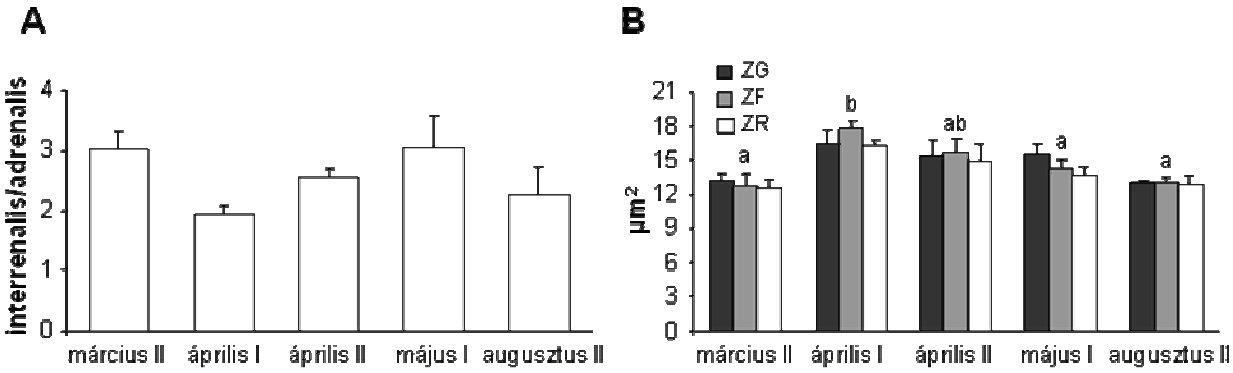
4.5.2. Az interrenalis állomány 3 zóna sejtmagméretének a vizsgálata

Az interrenalis állomány középső zónájának sejtmag mérete szignifikánsan változott az éves ciklus folyamán [F(4, 15)=4.48, p<0,05; **14. B. ábra.**], ugyanakkor a külső és belső zónák sejtmagjai csak szignifikanciát közelítő értékeket mutattak [Current effect: F(4, 15)=2,44; p=0,09; Current effect: F(4, 15)=2,49; p=0,08]. Ennek ellenére az utóbbi két zónában növekvő tendenciát figyelhetünk meg a szaporodási időszakban (elsősorban április I és április II) és viszonylag alacsony értékeket a nonreproduktív augusztus hónapban (augustus II). A középső zónában a sejtmagok mérete szignifikánsan megnőtt az udvarlási időszakban (április I, p<0,05), majd májusban (p=0,05) és ezt

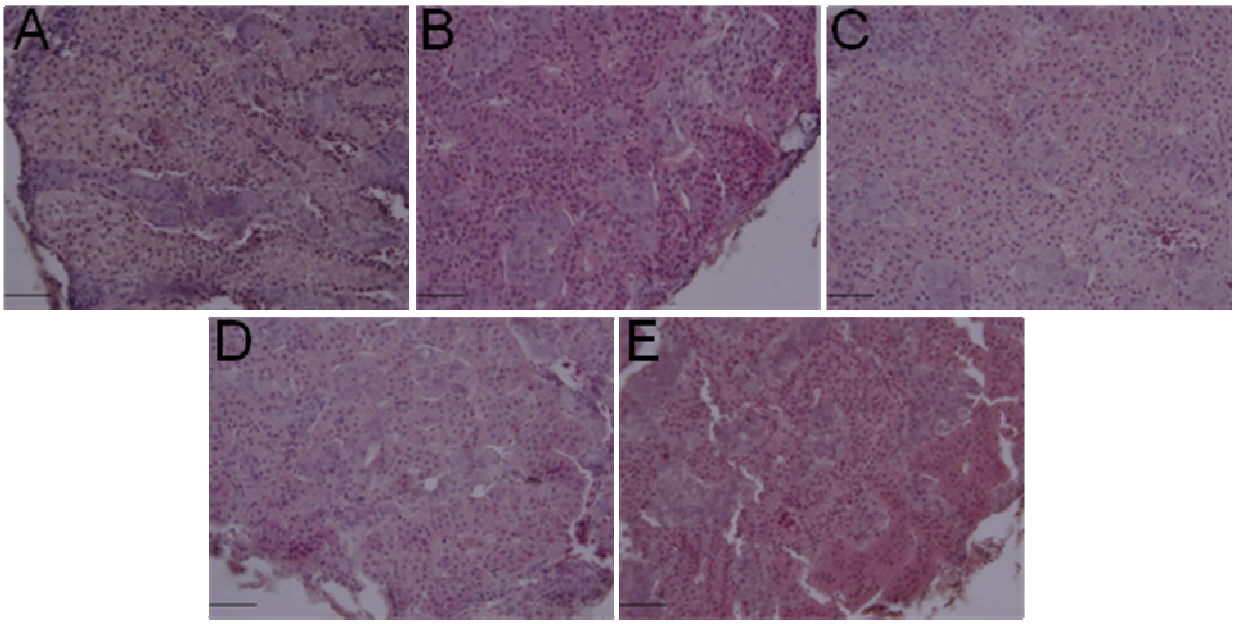
folytatólag augusztusban ($p<0,05$) lecsökkent. A március II és az augusztus II csoportok azonos zónáiban a sejtmagok mérete megközelítőleg egyformának bizonyultak.



13. ábra. A mellékvese zonációját ábrázoló mikrofényképek; **A**- ábra: ZG-zona glomerulosa, ZF-zona fasciculata, a-adrenalis állomány; **B**-ábra: ZF-zona fasciculata, ZR-zona reticularis, a-adrenalis állomány. A léptéket jelző szakasz: *50µm*

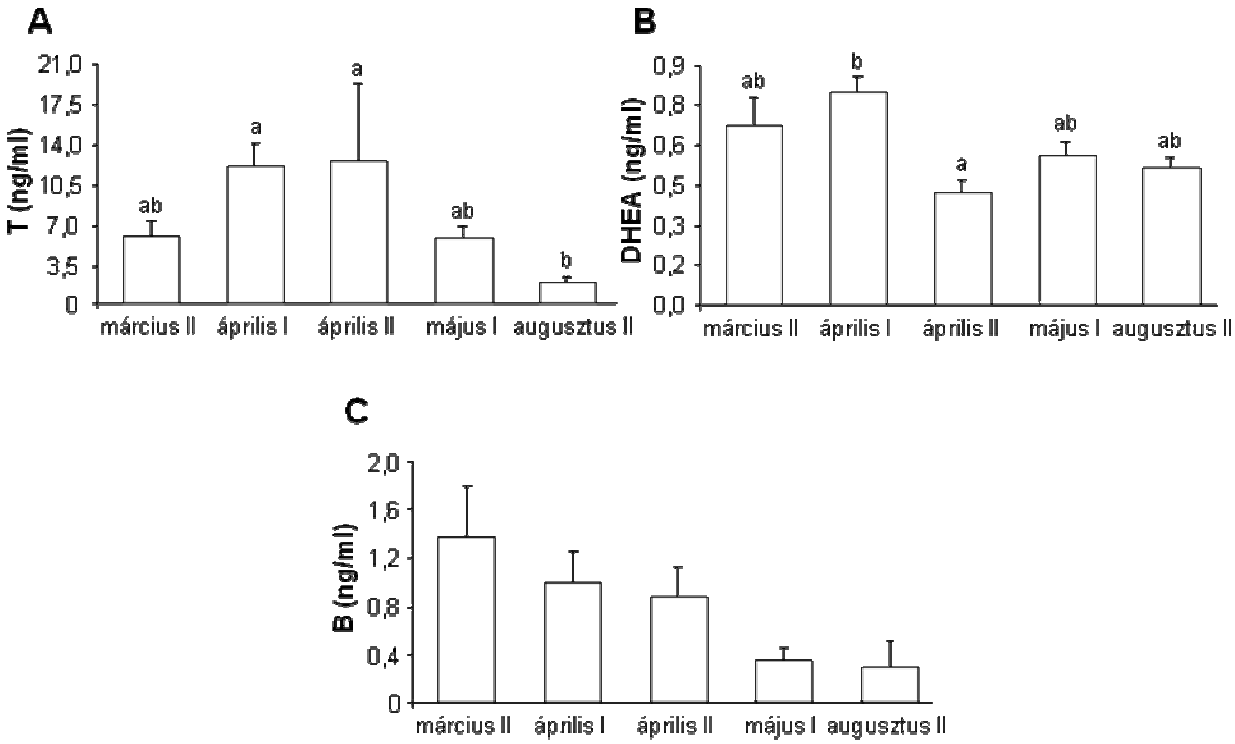


14. ábra. A mellékvese morfológiájának változása a fotoszenzitív (március I), az udvarlás (április I), a kotlás (április II), a fiókák kelése (május I) valamint a fotorefrakter (augusztus II) fázisok során; interrenalis/adrenalis hányados (**A**) és az interrenalis állomány 3 zónájának sejtmagmérete (**B**) (átlag ± SEM). Az eltérő *a, b* felső indexek azt jelölik, hogy szignifikánsan különböznek (egyszempontos ANOVA és Newman-Keuls post hoc analízis, $p<0,05$).



15. ábra. Mellékvesét ábrázoló mikrofényképek. **A**, március II; **B,** április I; **C,** április II; **D,** május I; **E,** augusztus II. A léptéket jelző szakasz: *500µm*

4.6. A hormonok szezonális változásai

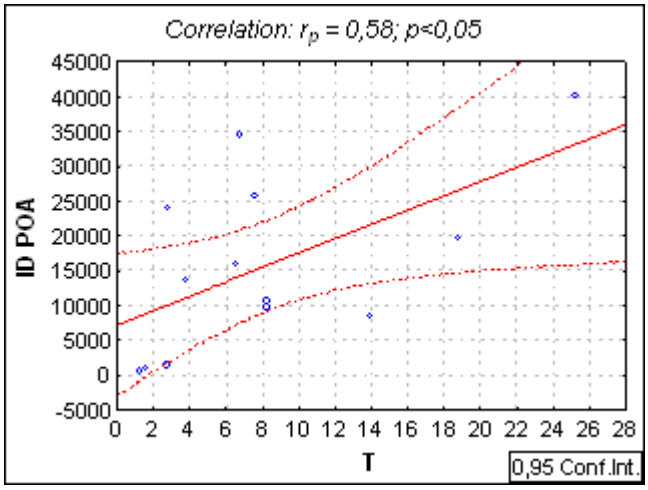


16. ábra. A hím seregélyek plazma T (**A**), DHEA (**B**) és B (**C**) koncentrációjának változása a fotoszenzitív (március I), az udvarlás (április I), a kotlás (április II), a fiókák kelése (május I) valamint a fotorefrakter (augusztus II) fázisok során (átlag ± SEM). Az eltérő *a*, *b* felső indexek azt jelölik, hogy azok szignifikánsan különböznek (egyszempontos ANOVA és Newman-Keuls post hoc analízis, $p<0,05$).

4.6.1. A tesztoszteron szezonális változása

Az ANOVA szerint, a T koncentrációja szignifikáns eltérést mutatott a szezon során [F(4, 17)=3,09; p<0,05; **16. A. ábra.**]. A T szintje növekedésnek indult a szezon elején és április (12,4±6,5 ng/ml) végén érte el csúcsértéket, ezt követően folyamatosan csökkent míg el nem érte az augusztusban mért minimális értéket (1,87±0,4 ng/ml). Newman-Keuls post-hoc teszt elvégzése után azt találtuk, hogy az augusztusi csoport szignifikánsan különbözött a korai valamint a késői április csoportoktól (p<0,05).

A T szezonális változása pozitívan korrelált a POA GnRH-I-ir integrált denzitásával (r_p=0,58; p<0,05; **17. ábra.**).

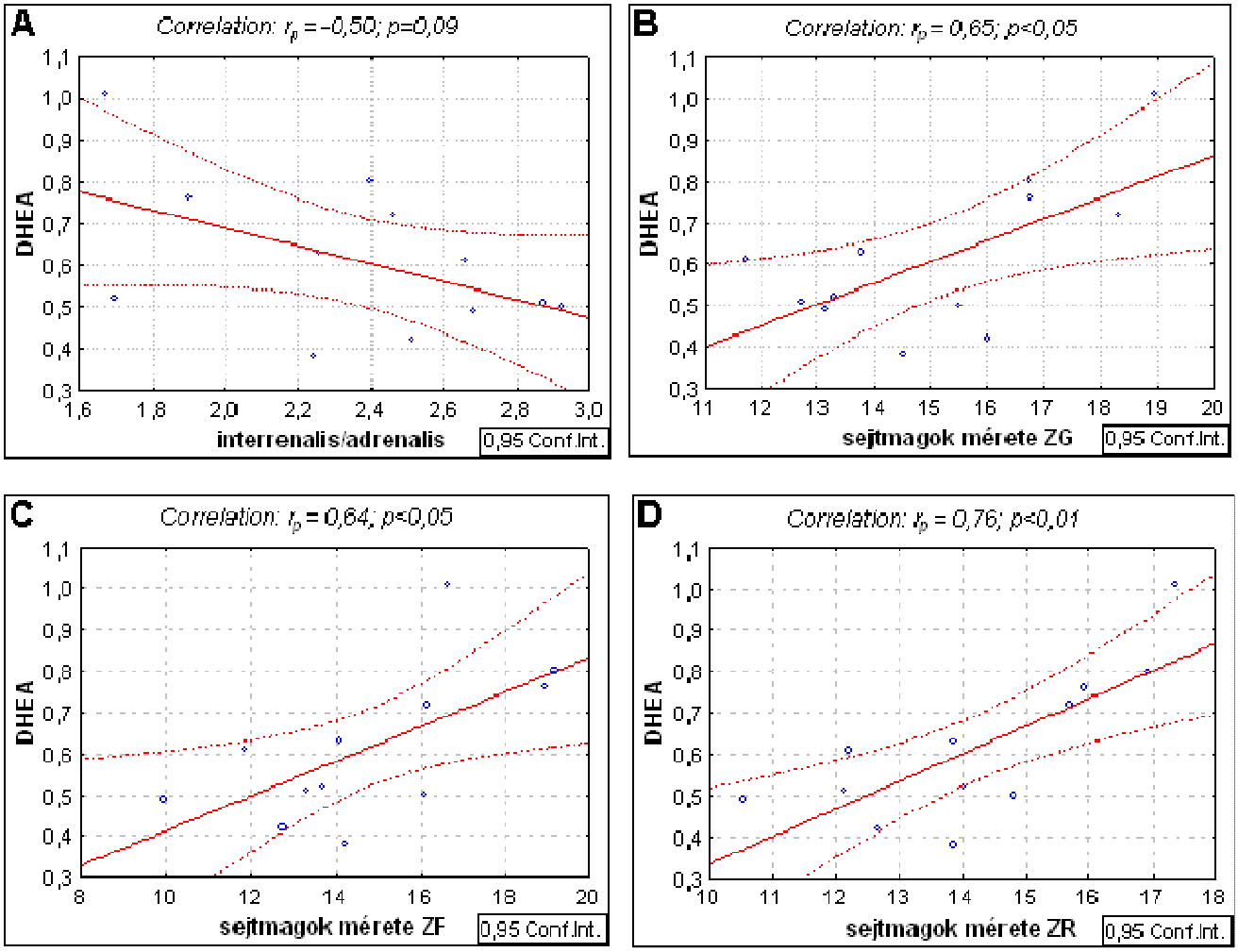


17. ábra. A plazma T szintjének korrelációja a POA GnRH-I-ir integrált denzitásával (**A**) és a here interstitium vastagságával (**B**).

4.6.2. A DHEA szezonális változása

A plazma DHEA szintje szignifikánsan változott a szezon során [F(4, 18)=4,24; p<0,05; **16. B. ábra.**]. Koncentrációja kora tavasszal mutatott magas értékeket, és április elején érte el a csúcsot (0,80±0,05 ng/ml). Április második felében meredeken csökkent a DHEA koncentrációja és viszonylag alacsony szinten maradt a vizsgált időszak végéig (0,42±0,05-0,52±0,03 ng/ml). Newman-Keuls post-hoc teszt szignifikáns eltérést mutatott ki a korai és a késői április csoport között.

A DHEA koncentrációja és az interrenalis/adrenalis hányados szezonális változása nem mutatott korrelációt (r_p=-0,50; p<0,09; **18. A. ábra.**). Ellenben a DHEA pozitívan korrelált a ZG (r_p=0,65; p<0,05; **18. B. ábra.**), ZF (r_p=0,64; p<0,05; **18. C. ábra.**), de különösen a ZR (r_p=0,76; p<0,01; **18. D. ábra.**) sejtmagjainak a méretével.

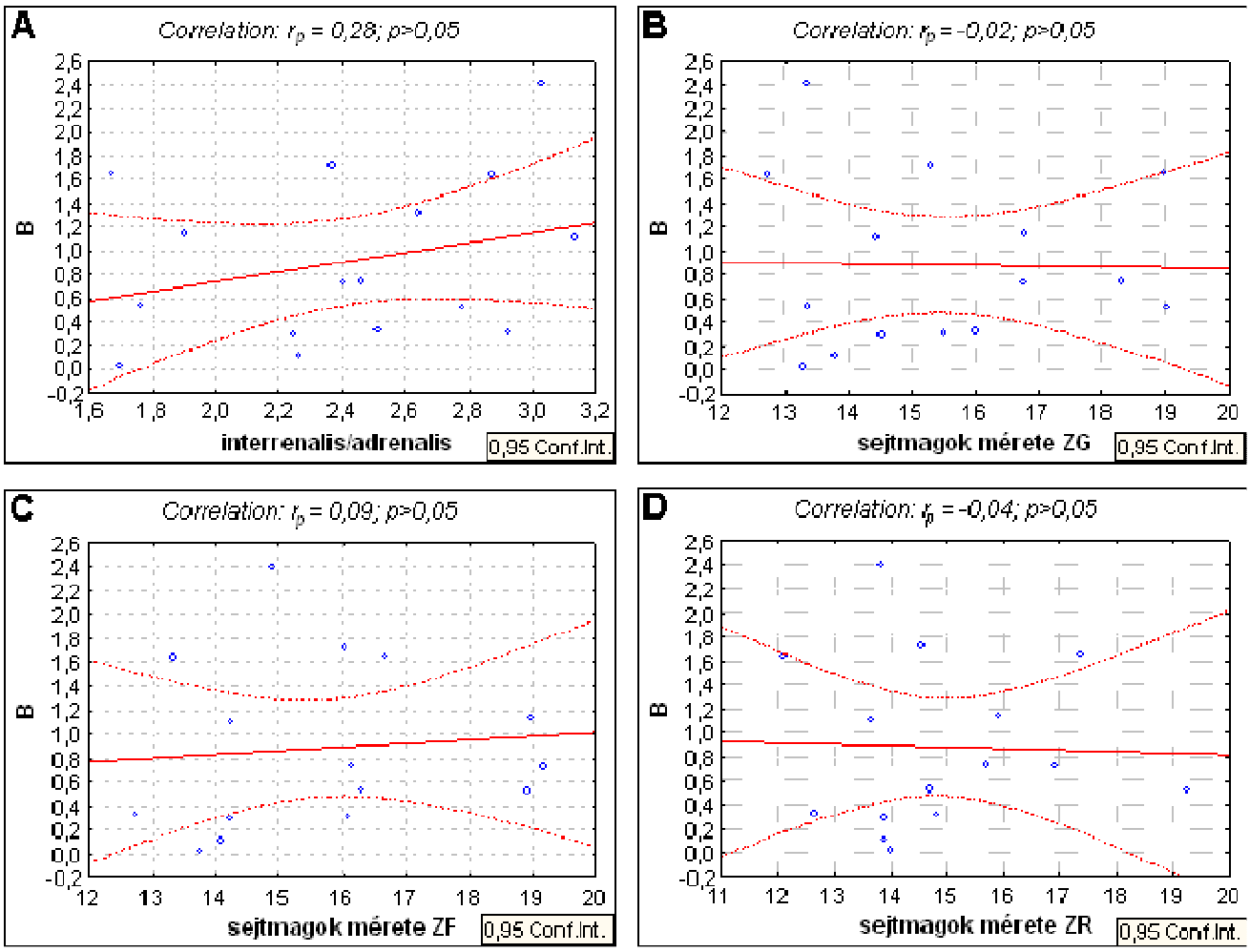


18. ábra. A plazma DHEA szintjének korrelációja a mellékvese interrenalis/adrenalis hányadosával (**A**), a ZG sejtmagméretével (**B**), a ZF sejtmagméretével (**C**) és a ZR sejtmagméretével (**D**).

4.6.3. A B szezonális változása

A B koncentrációja nem változott szignifikánsan az éves ciklus során, viszont csökkenő tendenciát mutatott a vizsgált időszak alatt [F(4, 24)=2,33, p=0,08; **16. C. ábra.**]. Március végén mértünk maximális értékeket (1,3±0,3 ng/ml), amit az udvarlási és a kotlási időszak (Április I, Április II) csökkenő tendenciája követett. A B plazmaszintje május elején (május I), valamint a késő nyári periódusban (Augusztus II) érte el a minimumát (0,34±0,1-0,29±0,2 ng/ml) az általunk vizsgált időszakokban. Koncentrációja az utóbbi két időszakban megközelítőleg azonos volt.

A B koncentrációja nem korrelált sem az interrenalis/adrenalis hányadosával (r_p=0,28; p>0,05; **19. A. ábra.**) sem a ZG (r_p=-0,02; p>0,05; **19. B. ábra.**), ZF (r_p=0,09; p>0,05; **19. C. ábra.**) vagy a ZR (r_p=-0,03; p>0,05; **19. D. ábra.**) sejtmagjainak méretével.



19. ábra. A plazma B szintjének korrelációja a mellékvese interrenalis/adrenalis hányadosával (**A**), a ZG sejtmagméretével (**B**), a ZF sejtmagméretével (**C**) és a ZR sejtmagméretével (**D**).

4.7. ARO aktivitás

A szexuális viselkedés szabályozásában fontos szerepet játszó hypothalamikus ARO expresszióját vizsgáltuk immuncitokémiai módszerrel. Markáns változásokat figyeltünk meg a vizsgált időszakban.

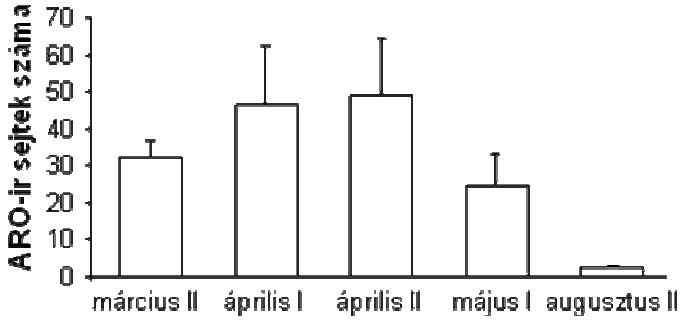
4.7.1. Az ARO-ir sejtek szezonális változása a POA/POM-ban

Hasonlóan a GnRH-I-hoz, az ARO immunfestődése jelen volt szinte a teljes neuronban, beleértve a sejttesteket és a dendriteket is. A dendritek nyúlványai gyakran hosszan kinyúltak. A sejtmag mentes volt az immunreaktiv anyagtól, kizárólag a citoplazma festődött meg.

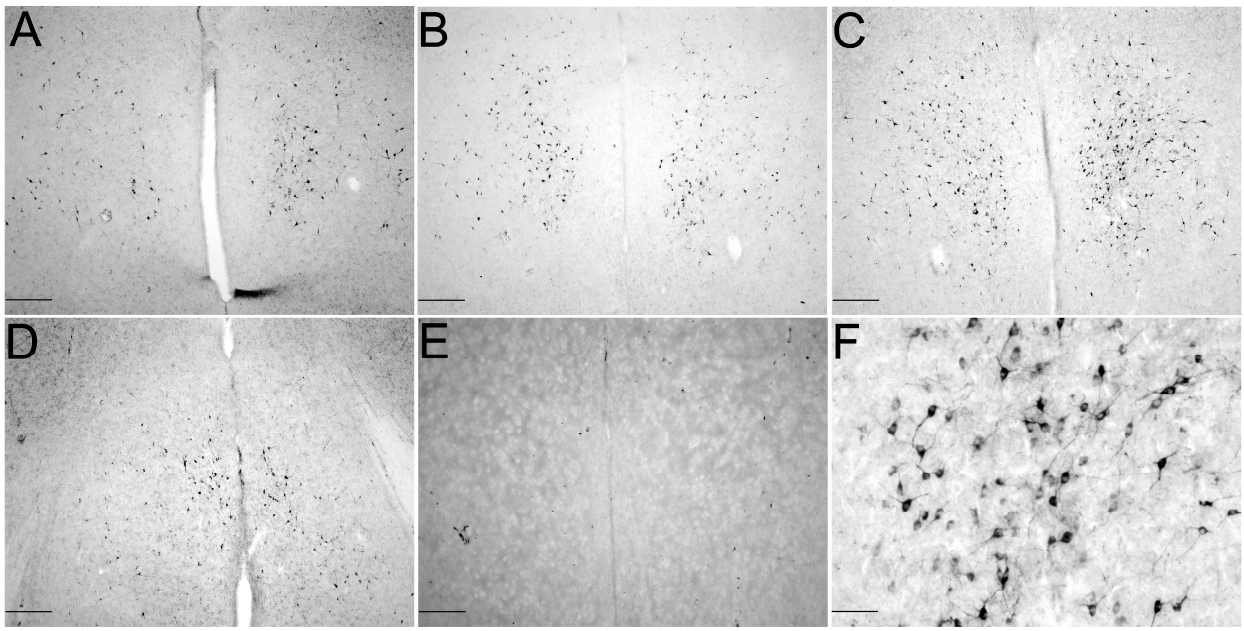
Az ARO immunreaktivitása a POA/POM-ban szignifikánsan változott az éves ciklus folyamán [$F(4, 15)=2,97$, $p=0,05$; **20. ábra.**]. Az ARO-ir sejtek száma növekvő tendenciát mutattak március és április vége között (március II – április II), majd számuk folyamatosan csökkent májusban és

augusztusban. A post-hoc teszt elvégzése után szignifikáns különbséget találtunk a tavaszi (március II – május I) és a szexuálisan inaktív időszak között (augusztus II; $p<0,05$). Továbbá, a tavaszi időszakban nem csak az ARO sejtek száma volt nagyobb, hanem azok immunfestődese is sokkal intenzívebbnek bizonyult az augusztusihoz képest. Az utóbbinál a dendritekből hiányzott az immunreaktivitás és rostot is csak elvétve figyeltünk meg (**21. ábra.**).

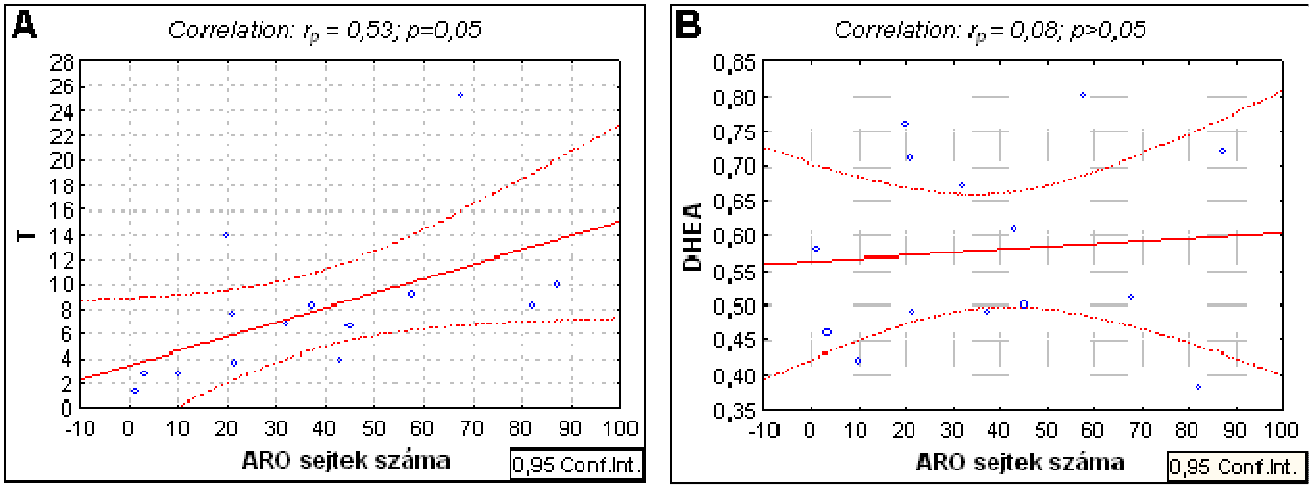
Az ARO enzim aktivitása a hypothalamikus POA/POM területen pozitívan korrelált a plazma T koncentrációjával ($r_p=0,53$; $p=0,05$; **22. A. ábra.**), a DHEA-val összehasonlítva viszont nem találtunk ilyen összefüggést ($r_p=0,08$; $p>0,05$; **22. B. ábra.**).



20. ábra. Hím seregélyek ARO-ir sejtek száma a preoptic area/medial preoptic nucleus-ban (POA/POM), a fotoszenzitív (március I), az udvarlás (április I), a kotlás (április II), a fiókák kelése (május I), valamint a fotorefrakter (augusztus II) fázisok során (átlag ± SEM).



21. ábra. A preoptic area/medial preoptic nucleus (POA/POM) ARO-ir sejtjeit ábrázoló mikrofényképek alacsonyabb nagyítás mellett (**A-E**, 100×). Mérsékelt immunreaktivitás a fotoszenzitív (**A**, március I), növekvő immunreaktivitás az udvarlás (**B**, április I) és a kotlás (**C**, április II) időszakokban, valamint gyengébb festődés a fiókák kelésekor (**D**, május I), és minimális előfordulás a fotorefrakter (**E**, augusztus II) fázisokban. A léptéket jelző szakasz: *200µm.* A nagyobb nagyítású képen (**F**, 400×), szexuálisan aktív madár nagyméretű sejtjei figyelhetőek meg, feltűnő dendritekkel és jelöletlen magokkal. A léptéket jelző szakasz: *50 µm.*

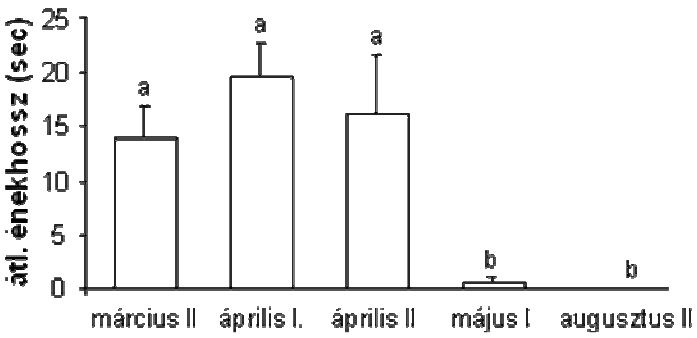


22. ábra. Az ARO sejtek számának korrelációja a plazma T (**A**) és DHEA (**B**) szintjével.

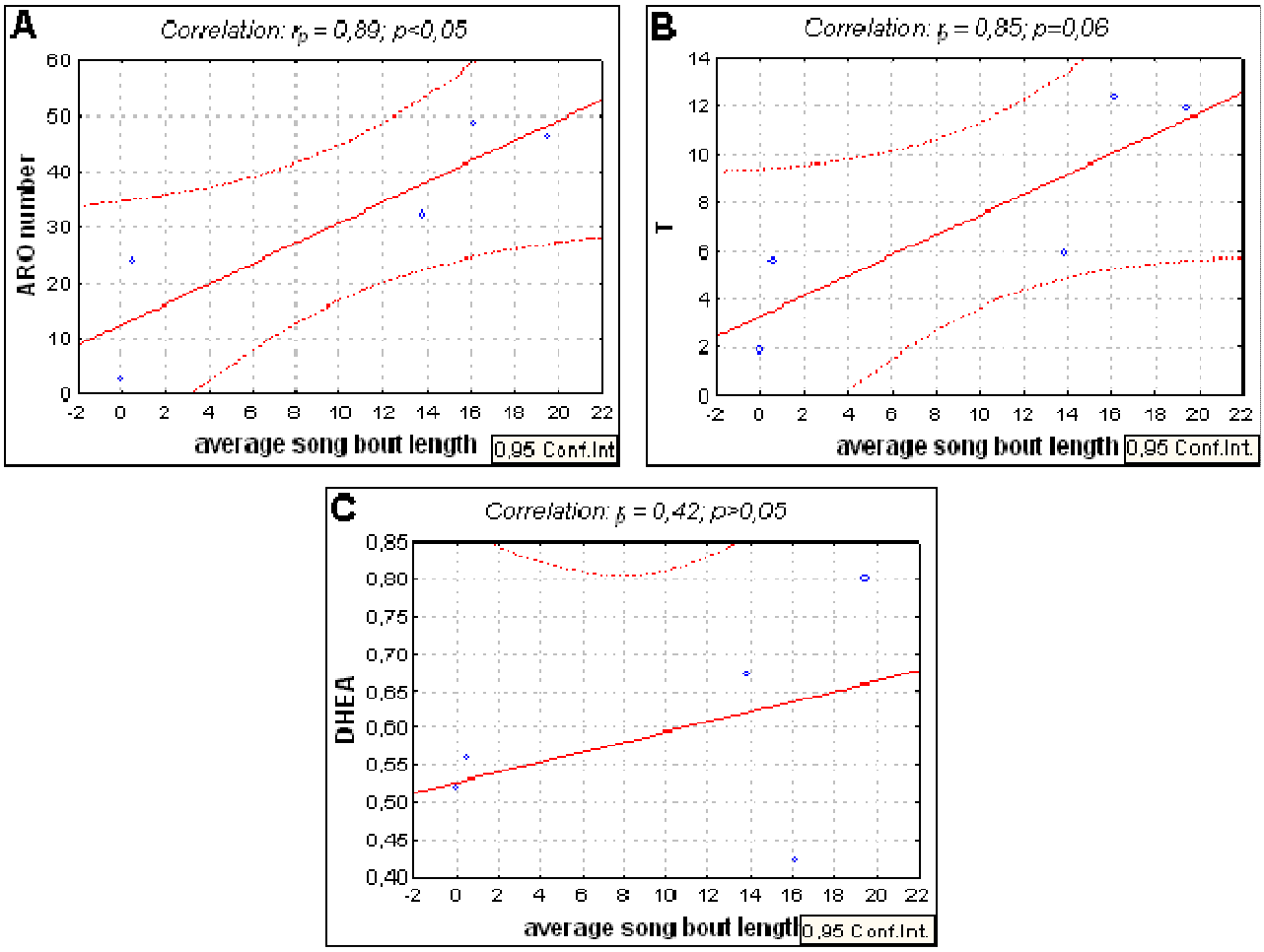
4.8. Udvarlási magatartás

4.8.1. Ének

Az átlagos énekhossz (average song bout length) szezonális változása szignifikáns és igen markáns eltéréseket mutatott a vizsgált időszak alatt [$F(4, 32)=19.72$, $p<0.001$; **23. ábra.**]. Maximális értéket az udvarlás idején (április I) érte el, ezután csökkenő tendenciát figyelhettünk meg. Május elején (május I) elején a madarak – egy kivételével – abbahagyták az éneklést. A szexuálisan inaktív (augusztus II) madarak vokalizációja inkább „kiáltásként” (bird call) definiálható, mintsem „énekként” (bird song). Az előbbi ugyanis általában rövid, egyszerű; általában hasonló, ismétlődő elemekből áll, és nem melódikus. Továbbá, a madarak ezt a vokalizációt többnyire akkor hallatták, amikor késő délután vagy pirkadatkor nagy tömegben szálltak le az éjszakai pihenőhelyükre, többnyire nádasokba. A nádasban keletkező óriás hangzavar miatt – több ezer, tízezer madár folyamatos és egyidejű kiáltása – miatt lehetetlenné vált a kiáltások kiértékelése. Mivel a fajra jellemző éneket nem figyeltünk meg ebben az időszakban, az átlagos énekhosszt nullának vettük.
Vizsgálatainkban az átlagos énekhossz és a POA/POM ARO aktivitása között erős korrelációt mértünk (r_p=0,88; $p<0,05$; **24. A. ábra.**). Ugyanakkor az énekhossz és a vérben keringő T szint között csak tendenciát (r_p=0,85; $p=0,06$; **24. B. ábra.**), míg a DHEA-val való összehasonlítás után semmilyen korrelációt nem figyeltünk meg (r_p=0,42; $p>0,05$; **24. C. ábra.**).



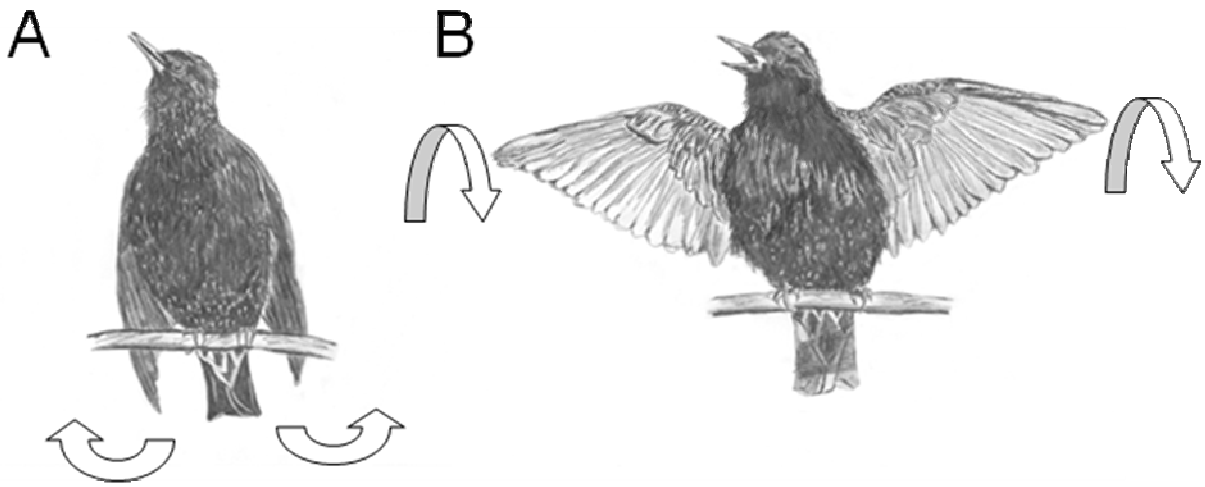
23. ábra. Az átlagos énekhossz (song bout) szezonális változása hím seregélyekben, a fotoszenzitív (március I), az udvarlás (április I), a kotlás (április II), a fiókák kelése (május I) valamint a fotorefrakter (augusztus II) fázisok során (átlag ± SEM). Az eltérő *a*, *b* felső indexek azt jelölik, hogy azok szignifikánsan különböznek (egyszempontos ANOVA és Newman-Keuls post hoc analízis, $p<0,05$).



24. ábra. Az átlagos énekhossz korrelációja az ARO sejtek számával (**A**), plazma T (**B**) és DHEA (**C**) szintjével.

4.8.2. Szárnymozgatás

Mind a szárny-villantást (**25. A. ábra.**), mind a szárny-rotálást (**25. B. ábra.**) azok a hímek mutatták, amelyek a fészekodúk közelében egy jól látható poszton ültek és énekeltek. Az ének előrehaladtával és a tojók jelenléte mellett az említett mozgásmintázatok intenzitása nőt, azaz az egyre hangosabb éneket, a folyamatosan gyorsuló és erőteljesebb szárnymozgások követték. Habár az odúfoglalás és a kotlás között eltelt időszakban (márciustól II – április II) mindkét szárnymozást sikerült megfigyelnünk, úgy tűnt, hogy az udvarlás idején - különösen a tojók jelenlétében -, valamint közvetlenül a párzás előtt a szárny-rotálás volt inkább jellemző. Augusztusban és többnyire májusban is – amikor az éneklés is szünetel – az említett szárnymozgásokat nem sikerült megfigyelnünk.



25. ábra. A szárny villantást (gyors és ismétlődő szárny oldalmozgások, **A**) és a szárnyrotálást (**B**) a szaporodási időszak nagy részében megfigyelhettük (március II – április II), ugyanakkor a tojó jelenlétében a szárnyrotálás volt inkább jellemző. Az augusztusi időszakban mindkét szárnymozgás hiányzott.

5. KÖVETKEZTETÉSEK és JAVASLATOK

5.1. A klimatikus tényezők szerepe a seregély szaporodási ciklusának szabályozásában

A madarak az éves bioritmusuk és a klimatikus tényezők precíz összehangolásával határozzák meg a szaporodási időszak kezdetét és végét. Ennek az a célja, hogy az utódok világrahozatala a lehető legoptimálisabb időszakra essék, azaz akkor, amikor kellő mennyiségű és minőségű táplálék található (Péczely 1987). Míg a mérsékelt és hideg égövön a nappalok hossza játszik elsődleges szerepet a szaporodási időszak kialakításában, addig a trópusokon vagy a szubtrópusokon a csapadék mennyisége vagy a hőmérséklet ingadozása lehet a meghatározó (Hau 2001).

5.1.1. A nappalok hossza és a szaporodás összefüggései

A nappalok hosszának évszakos változása kis eltéréssel (nagyjából fél óra), meglehetősen azonos Magyarország egész területén és szinte alig mutat változást az egymást követő években (Európai Meteorológiai Szolgálat). Március végén (március II), az első mintavételezésünk idején a nappalok hossza kb. 11-12h. Fogságban, mesterséges megvilágítás között tartott seregélyeknél ez az érték elég ahhoz, hogy előidézze a herék fejlődését. Ennél nagyobb megvilágítási értékek áprilisban (12-13h) már erősen aktiválják a HHG tengelyt. Ugyanakkor, a nyári hosszú nappalok már gátolják a gonádok működését, s kialakul a fotorefrakteritás fázisa (Dawson, Goldsmith 1983, Falk, Gwinner 1988).

A téli és a nyári napforduló között a nappalok hossza nő és egyben a növekedés mértéke is markánsabb a nagyobb északi szélességi fokokon (é. sz.). Ennek fügvényében, néhány kísérletben azt figyelték meg, hogy azonos madárfajok, de nagyobb szélességi fokokon élő populációi később kezdik el fészkelésüket (Sanz 1998). Vizsgálatainkat a 47,2°-47,5° é. sz. végeztük, ahol április első felében az udvarlást, április második felében a kotlást, míg május elején a fiókák kelését figyelhettük meg a seregélyeknél. Ennek ellenére, az északabbra élő seregély populációk (pl. Antwerpenben (é. sz. 52,3°), Cambridgeshireben (é. sz. 52,4°)) nagyjából azonos időben fészkelnek a hazaiakkal, annak ellenére, hogy a herefunkciók valamelyest előbb aktiválódnak (Dawson 1983, Dawson, Goldsmith 1984, Riters et al. 2001). A seregélyek, a nappali megvilágítás széles skáláján képesek fenntartani, kisebb-nagyobb eltéréssel a gonádonövekedés rátáját (Dawson 2008), ezért lehetséges az, hogy eltérő szélességi fokokon is nagyjából azonos időben kezdik fészkelésüket. Ezt támasztja alá az a kísérlet, amelyben fogságban és mesterséges megvilágítás alatt tartott seregélyeket igen eltérő szélességi fokokra jellemző megvilágításban részesítették (52° és 9°). Az é.

sz. 9° csoportban a gonádok fejlődése kis mértékben előbb indult, ugyanakkor a herék regressziója és a vedlés azonos időben történt (Dawson 2007).

5.1.2. A hőmérséklet és a szaporodás összefüggései

Az éghajlat évszakos változása eredményeként tavasszal megnő a hőmérséklet és vele együtt a gerinctelenek száma is, ami a legtöbb madárfaj fiókáinak táplálékát képezi. A nappalhossz és a hőmérséklet egymáshoz viszonyított évszakos változása nem mindig azonos/párhuzamos, főleg nem, ha kisebb időintervallumot veszünk figyelembe. Ezért, ha a madarak szaporodási időszakának kezdetét kizárólag a nappalok hossza határozná meg, előfordulhatna az, hogy a fiókák kelésekor a szülők nem tudnák azokat táplálékkal ellátni. A hőmérséklet tehát mintegy finomhangolóként módosít a fészkelés végleges időpontján (Barrientos et al. 2007, Dawson, Sharp 2010).
Az általunk vizsgált területeken a hőmérséklet átlagos évszakos változása egybevág a madarak fenológiai állapotával. Ugyanakkor vizsgálatok seregélyen, széncinegén és koronás verébsármányon *(Zonotrichia leucophrys oriantha)* azt mutatták ki, hogy a hőmérséklet nem befolyásolta a here maturáció kialakulásának idejét és rátáját, viszont a magas hőmérséklet előrehozta a gonádok regresszióját és a vedlést (Dawson 2005a, Silverin et al. 2008, Wingfield et al. 2003). A magasabb hőmérséklet serkenti a prolaktin elválasztását, ami valószínűleg centrálisan és nem perifériásan hatva serkenti a fotorefrakteritás kialakulását (Dawson, Sharp 2010). Habár seregélyekben a hőmérséklet nem hat a gonádok fejlődésére, a tojásrakás idejét már a környezet 2-3 °C-os eltérése is befolyásolja (Meijer et al. 1999). Ezért, annak ellenére, hogy vizsgálatunkban a herék fejlődése és az éves hőmérséklet változása között párhuzamot lehet vonni, az utóbbi valószínűleg csak közvetett módon hat a reproduktív állapot kialakulására, mégpedig a gerinctelenek – mint táplálék – elszaporodását serkentve.
Mind a tavasszal, mind az ősszel, a „normális” hőmérskéklettől való eltérés vándorlásra készteti a seregélyeket (Richardson, Haight 1970). Hazánkban, a júliusi csúcshőmérsékletek után augusztus végén és szeptember elején az átlaghőmérsékletben néhány fokos csökkenés tapasztalható (Országos Meteorológiai Szolgálat b). Ez változás már valószínűleg elég ahhoz, hogy madaraink *Zugunruhe* állapotba kerüljenek és elinduljanak dél irányában.

5.1.3. A csapadékmennyiség és a szaporodás összefüggései

A csapadék, hasonlóan a hőmérséklethez a gerinctelenek és a fűmagok előfordulását növelik meg az esős évszakban, biztosítva sok madárfajnál az utódok tápanyaggal való ellátását. Az általunk megfigyelt területeken az évi csapadékmennyiség eloszlása hasonlóan változott, mint a hőmérséklet

és a nappalok hossza, de tavasszal a növekedési rátája kevésbé erőteljesnek bizonyult az utóbbi kettőhöz képest (Országos Meteorológiai Szolgálat a).
Míg a seregély és a többi mérsékelt és hideg égövön élő madárfajok esetében elsősorban a nappalok hossza határozza meg a szaporodási időszak kezdetét, a trópusi esőerdőkben vagy arrid területeken az esős évszak döntő befolyással bír. Galápagoson élő kis földipintyek *(Geospiza fuliginosa)* vagy az USA déli részén előforduló vörösesszárnyú verébsármány (*Peucaea carpalis)* esetében ugyanis a legfontosabb fészkelési stimuluszt a csapadékmennyiség jelenti (Hau et al. 2004b, Lowther et al. 1999)

5.2. A seregélyek általános kondíciójának szezonális alakulása

A szaporodási időszakban mind a hím, de elsősorban a nőstény madarak szervezetét nagy mértékű anyag- és energiaforgalom megnövekedése jellemzi. Csak a kellően „felkészített" szervezet tudja hatékonyan véghezvinni a folyamattal járó hatalmas megterhelést (Péczely 1987).
A vándorló énekes- és partimadarak zöme szezonálisan változtatja a testtömeget és arányaiban sokkal nagyobb mértékben, mint más gerincesek. A vándorlás előtt néhány héttel akár megduplázhatják a testtömegüket (Davidson, Evans 1988). Habár ezek a változások elsősorban a zsír (subcutan, hasüregi) testben való lerakódásának köszönhető, egyes fajokban a fehérjék deponálása is igen komoly mértékű lehet (Gerson, Guglielmo 2011, McLandress, Raveling 1981). A zsírszövet mennyiségének növekedése egyenes arányban áll a zsírsejtek méretének változásával, azaz a premigratórikus zsírlerakódás elsősorban a szövet hypetrophiájának és kevésbé a hyperplasiájának köszönhető (Hicks 1967).
Vizsgálatainkban a testtömeg és a zsírsejtek mérete szezonális változást mutatott. Annak ellenére, hogy a kettő hasonlóan változott a vizsgált időszakokban, szignifikáns korrelációt nem találtunk közöttük, valószínűleg a zsírsejtekben mért nagyobb szórásértékek miatt. A szakirodalom többségében, a vadmadarak zsírdeppóinak vizsgálata non invasiv módon történik, ahol a bőr alatti, azaz subcutan zsírmennyiséget határozzák meg különböző módszerek, skálák alapján (Kaiser 1993, Rogers 1991). Ugyanakkor az abodminális zsírszövet beidegzettsége, vérellátása nagyobb mértékű, valamint több adrenerg és glükokortikoid receptor található, mint a subcutan zsírszövetben. A hasüregi zsírsejtek egyben metabolikusan aktívabbak, azaz érzékenyebbek a lipolitikus (zsírbontó) hatásoknak. A testtömeg csökkenés tehát nagyobb mértékben érinti az abdominális, mint a subcutant zsírszövetet (Ibrahim 2010). A fentiek alapján a zsírlerakódás kinetikája valószínűleg markánsabb az előbbiben, valamint a gyorsabb és egyszerűbb feltárás miatt választottuk az abdominalis zsírszövetet. Továbbá, a hasüregben akkor is kellő mennyiségű zsírt találtunk, amikor más testrészeken az kevésbé volt jelen. Nyáron, amikor meglehetősen alacsony a test zsírtartalma, a

hasüregi zsír izolálása nem okozott gondot, ugyanakkor a subcutan zsírt csak sok apró foszlányban tudtuk volna kimetszeni. Ez kétségkívűl megnehezíti vagy akár lehetetlenné teszi a paraffinba ágyazott zsírszövet lemetszését és elemzését. Annak ellenére, hogy késő nyáron (augusztus II) a seregélyek már premigratorikus fázisban vannak, nem találtunk szignifikáns sejtnövekedést ebben az időszakban. Mivel a vándor énekesmadarak nagyon gyorsan, akár 6-10 nap alatt feltöltik a zsírraktáraikat, elképzelhető, hogy egy héttel később való mintavételezés már kimutatta volna a szignifikáns különbséget.

A testtömeg szezonális változása, miszerint a szaporodási időszakban (április I - május I) folyamatosan csökken annak értéke, egybevág más seregéllyel kapcsolatos irodalmi adatokkal (Kordonowy et al. 2010, Meijer et al. 1994). Kordonowy és mtsai (2010) azt találták, hogy seregély tojóknál a tojásrakás után szignifikánsan lecsökkent a testtömeg és a fiókák kelésekor érte el a reproduktív időszak minimális értékét. Egy hipotézis szerint ez a testtömeg csökkenés nem hátrányt, hanem előnyt jelenthet a szülők számára, hiszen a fiókák etetésekor a nagyobb testtömeg megnehezítené a repülést (Freed 1981). Az augusztusban mért, májusihoz viszonyított növekvő tendenciát mutató értékek valószínűleg a vándorláshoz szükséges energiaraktározási állapotot tükrözik. A testtömeg szezonális alakulása nem csak időhöz/időszakhoz kötött, hanem különböző szociális hatásokra is megváltozhat (Witter, Goldsmith 1997).

5.3. A GnRH expressziójának szezonális változása

A gerincesek szaporodásának szabályozásában meghatározó szerepet játszik a GnRH-I peptid (Gore 2002). Habár a GnRH-I sejttestek a madáragy különböző régióiban is megtalálhatóak, elsődlegesen és egyben a legnagyobb mennyiségben a POA-ban fordulnak elő, ahonnan rostjaikat az EM felé proiciálják. Különböző madárfajokat vizsgálva azt találták, hogy a GnRH-I expressziója és a gonádok fejlettségi állapota között szoros összefüggés figyelhető meg (Bluhm et al. 1991, Cho et al. 1998, Hurley et al. 2008, Stevenson, Macdougall-Shackleton 2005).

Vizsgálatainkban a POA GnRH-I sejttesteknek és rostoknak (teljes) integrált denzitása növekvő tendenciát mutatott tavasszal (március II – május I) és az adott időszakok szignifikánsan különböztek az augusztusi, fotorefrakter csoporttól. Ez megegyezik a korábbi fogságban élő seregélyen (Dawson, Goldsmith 1997), házi verében (Hahn, Ball 1995, Stevenson, Macdougall-Shackleton 2005) és házi pirókon *(Carpodacus mexicanus)* (Cho et al. 1998) végzett kísérletek eredményeivel. Az immunreaktív GnRH-I sejttestek és rostok szinte teljesen eltűntek a fotorefrakter (augusztus II) állatok POA-jából. Továbbá, habár a GnRH-I-ir sejttestek mérete tavasszal nem változott szignifikánsan, augusztus végén viszont nagymértékben lecsökkent. Egyes régebbi publikációkban elsősorban a GnRH-ir sejttestek méretét és annak szezonális változását határozták

meg seregélyekben (Foster et al. 1987, Goldsmith et al. 1989). Újabban viszont a megváltozott fenológiai állapotokat az eltérő GnRH-I-ir sejtek számával magyarázzák mind mRNS, mind peptid szintjén is (Stevenson, Ball 2009, Stevenson et al. 2011, Stevenson et al. 2009b). Vizsgálatunkban nem határoztuk meg a sejtek számát, mert különösen a szexuálisan aktív időszakban a rendkívűl erősen festődő sejtek „összemosódtak", valamint a nagy mennyiségű rostok miatt lehetetlenné vált minden immunreaktív sejt azonosítása és megszámolása. Az integrált denzitás mérésénél viszont nem volt jelentősége, ha a sejtek összemosódtak, ennél a módszernél a szövet teljes immunfestődését (sejttest + rost) határoztuk meg. A sejttestek méretének meghatározásával és a rostok figyelembevételével pedig információt kaptunk a peptid szintézisének és transzportjának dinamikájáról.

A szezonálisan szaporodó madárfajoknál, a reproduktív rendszer neuroendokrin szabályzásának reaktivációja általában már ősszel, a fotorefrakter fázis után kialakul. A hypothalamusban ekkor már egy enyhe GnRH-I mRNS expresszió figyelhető meg, amit késéssel egy kismértékű GnRH-I peptid szintézis követ (Stevenson et a. 2011). Március végén (március II) – még fotoszenzitív szakasz - feltűnően sok sejttestet, de kevés rostot figyeltünk meg, ami arra utalhat, hogy a fotorefrakter állapothoz viszonyítva, a fotoszenzitív fázisban megnő a sejtek GnRH-I peptid szintézise, ugyanakkor az axonális transzport és valószínűleg a release még mérsékelt. Úgy tűnik tehát, hogy a fotoszenzitív madarakban a csökkent GnRH-I release, s nem a hormon elégtelen termelése okozza az alacsony gonadális aktivitást (Stevenson et al. 2009b). Ugyanis fotoszenzitív Cassin pirók *(Aimophila cassinii)* és vörösesfejtetejű verébsármány *(Rufous-crowned Sparrow*) (Deviche et al. 2008), valamint seregély (Dawson 2005b) *N*-methyl-D,L-aspartate – val (az LH szekrécióját serkentő aminosav származék) kezelése után megnőtt azok plazmájának LH szintje. Április első felében (április I) a rostok nagyobb mértékű proliferációját figyeltük meg madarainkban, ami a GnRH-I transzportját jelzi. Hazánkban ebben az időszakban a napi megvilágítás kb. 12-13h. Dawson és Goldsmith (1983) azt demonstrálták kísérletükben, hogy a 13L : 11D fényprogram markáns gonadotropin koncentrációnövekedést és gonadális érést idézett elő hím seregélyekben. A 11L : 13D megvilágítás mellett viszont csak kevésbé növelte meg a plazma gonadotropin szintjét és a here növekedése is kisebb mértékűnek bizonyult, továbbá ezeknél a madaraknál nem alakult ki a fotorefrakteritás. A felsoroltakból arra következtethetünk, hogy seregélyekben a 12-13h alatti megvilágítás (március II) megnöveli a GnRH-I szintézisét a POA-ban, ugyanakkor az utóbbival megeggyező vagy nagyobb fénytartam április első felében (április I) már a HHG tengely erőteljesebb aktivitását idézi elő. A nem szignifikáns, de csökkenő tendenciát mutató sejttestek méretét április elején (április I) valószínűleg a hosszabb megvilágítást követő GnRH-I transzport (POA-EM irányában) okozhatta. A nappalok hosszának tehát kettős szerepe van; szabályozza a GnRH-I szintézisét, valamint transzportját és release-ét. (Dawson, Goldsmith 1997,

Stevenson et al. 2009a). A fotoperiódus mellett a szociális kapcsolatok is közvetlenül befolyásolhatják a GnRH-I expresszióját. Fogságban tartott hím seregélyeknél, a tojók jelenléte nagyobb mértékben növelte meg a GnRH-I sejtek számát az egyedül tartottakhoz képest (Stevenson, Ball 2009). Április végén (április II) és május elején (május I) további növekvő tendenciát figyeltünk meg a GnRH-I-ir sejtek denzitásában és a sejttestek méretében, ami feltehetőleg a következő fészkelésre való felkészülést jelzi. Magyarországon ugyanis a seregélyek kb. 60%-a május végén, június elején egy újabb költésbe kezd (Molnár 1998).

A EM GnRH-I-ir rostjainak integrált denzitása folyamatos növekedést mutatott március végétől a fotostimuláció teljes időszakán át (március II – május I), ennek ellenére nem találtunk szignifikáns eltérést a csoportok között. A festődés elsősorban a zona externában volt jellemző. Fogságban tartott seregélyeknél mesterséges megvilágítás alkalmazása mellett csak a már hosszabb ideje fotorefrakter madaraknál csökkent szignifikánsan a GnRH-I rostok denzitása az EM-ban. A fotoszenzitív és a fotostimulált madarak között nem találtak szignifikáns eltérést, ugyanakkor az utóbbinál növekvő tendenciát figyeltek meg (Parry et al. 1997). Más, ugyancsak fogságban tartott seregélyeknél, a fotostimulált (megnőtt here) madarak EM-ban némileg tobb rostott figyeltek meg a rövidnappalos fotoszenzitív (kis here) madarakéhoz képest, ami arra utal, hogy az előbbiekben a GnRH-I release-ének rátája nagyobb mértékű lehetett (Foster et al. 1987).

Mindazonáltal, hogy az EM GnRH-I rostozata a fotoszenzitív és a fotostimulált fázisok között nem minden esetben mutat egyértelmű, azaz szignifikáns eltérést, a fentiek alapján megállapítható, hogy a fotoszenzitív madarak már jelentős GnRH szintézise még nem párosul hasonló mértékű release-val. Ugyanakkor, mind a vadon, mind a fogságban tartott seregélyeknél az EM GnRH-I rostozatának immunoreaktivitása drasztikusan lecsökkent a fotorefrakteritás idején. Ezt a folyamatot viszont megelőzi a GnRH-I szintézisének blokkolása, mRNS szinten. Seregélyekben tehát a fotorefrakteritás elsősorban a GnRH-I szintézisének és nem a release gátlásán keresztül valósul meg (Parry et al. 1997, Stevenson et al. 2009a, Stevenson et al. 2009b).

5.4. A seregély here morfológiájának és funkciójának szezonális változása

A here méretének, valamint az általa termelt androgének mennyiségének a meghatározása kulcsfontosságú minden olyan vizsgálatnál, ahol a madár szexuális állapotát/fenológiáját szeretnénk megvizsgálni. Ugyanakkor, a here szövettanának részletes elemzése segít pontosabban meghatározni a pillanatnyi állapotot. A háziasításnak köszönhetően a domesztikált madárfajok herefunkciójának évszakos változása kevésbé feltűnő, mint a vadon élőkké, ezért az utóbbiak vizsgálata egyértelműbb magyarázatot adhat a környezet okozta változásokra.

Habár nem találtunk szignifikáns eltérést, az éves ciklus során mindvégig a bal here mutatkozott nagyobbnak, s ez különösen a szexuális aktív időszakra volt jellemző (április I – május II). Az eredményeink alátámasztják Bullough (1942) megfigyeléseit seregélyeken, miszerint az esetek többségében a bal here bizonyult nagyobbnak. Ennek ellenére ő sem talált szignifikáns eltérést a két oldal között. Friedmann (1927) szerint a madarakban a bal oldali dominancia gyakoribb, habár az oka egyelőre ismeretlen. Witschi (1935) embriológiai vizsgálatai rámutattak arra, hogy az embriogenézis 3.-ik napján, az indiferens jobb gonád cortexe elveszíti kemotaktikus vonzóképességét a bal gonád cortexével szemben. Ezzel szemben egyes madaraknál mindkét gonád egyforma méretű (Friedmann 1927). Funkcióját illetően Møller (1994) pozitív korrelációt talált az asszimetria mértéke és a másodlagos ivari jellegek expressziója között füsti fecskében *(Hirundo rustica)* és házi verébben, de ezt nem sikerült bizonyítani odúfecske *(Tachycineta bicolor)* (Kempenaers et al. 2002) és bankivatyúk (Kimball et al. 1997) esetében. Az utóbbiaknál az asszimetria jelensége viszont csak az alakban és nem vagy ritkán jelenik meg a méretben. A Møller hipotézise úgy tűnik, hogy azokra a fajokra vonatkozik ahol a herék mérete között minden esetben méretbeli különbség figyelhető meg.

A seregély here mérete - hasonlóan más mérsékelt égövön élő vadmadárhoz – jelentős szezonális változáson megy keresztül. Vizsgálatunkban mindkét here folyamatosan növekedett a tavaszi időszak alatt, majd méretük drasztikusan lecsökkent a nyár végén (augusztus II). Március II és április I között növekedésében egy nagyobb ugrás figyeltünk meg, amely időszak egybevág a madarak intenzív udvarlásának és kopulációjának az időszakával. Maximális méretet május elején mértünk, habár ez a csoport nem különbözött szignifikánsan az április I és II csoporttoktól. Ezek a méretbeli eredmények nagyjából megegyeznek a belgiumi, az angliai és USA vadon élő seregélyeinek adataival, annyi különbséggel hogy esetükben a here hosszát és súlyát határozták meg. Ugyanakkor, mindhárom helyszínen májusban csökkenő értékekről számoltak be, függetlenül attól, hogy a madarak vadon élők vagy fogságban tartottak, de természetes megvilágításban voltak (Dawson 1983, Dawson 2005b, Dawson, Goldsmith 1984, Riters et al. 2001, Temple 1974). Továbbá, Bullough (1942) arra hívja fel a figyelmet, hogy az angliai populáció valójában az angol nem vándorló és az ősztől kora tavaszig ott telelő „kontinentális” seregélyekből tevődik össze. A migráció mellett a másik nagy különbség abban nyílvánult meg, hogy az „angol” egyedeknél már ősszel megindult a herék nagyobb mértékű növekedése, s ezért márciusban jelentős különbséget figyeltek meg a két populáció között. Dawson (Dawson 1983, Dawson 2005b, Dawson, Goldsmith 1984) angliában végzett kísérleteiben nem tesz említést a madarak eredetéről. Továbbá ismert az, hogy az USA-ba betelepített madarak Angliából származnak, habár azok konkrét eredete (angol, kontinentális) nem ismert (Wikipedia). Tovább bonyolítja a helyzetet, hogy az USA bizonyos régióiban a seregélyek nászmagatartását és kopulációját az év szinte minden hónapjában

megfigyelték, júliust és augusztus kivéve, valamint azoknál a madaraknál ismeretlen az őszi és a tavaszi vonulás (Kessel 1957). A fentiek alapján arra lehet következtetni, hogy az élettani vagy anatómiai összehasonlításokat egy fajon belűl, de földrajzilag teljesen eltérő helyen élő populációk esetében csak körültekintően és azok eredetének, valamint a körülmények pontos megjelölésével lehetséges elvégezni.

Vizsgálatainkban a tunica albuginea vastagsága nem változott a tavaszi periódus alatt, ugyanakkor augusztus végén szignifikánsan megnőtt. Az előbbi időszakban 35-40 µm míg az utóbbinál kb. 66 µm vastagságot mértünk. Ezt a jelenséget, már több madárfajban is leírták (Baraldi-Artoni et al. 2007, Bullough 1942, Crouch 1939). A tunica albuginea átlagos vastagsága többé-kevésbé korrelál a madarak méretével (Aire 2006a). A fotorefrakter időszakban mért nagyobb érték az alulról (here lumen felől) újonnan képződő „friss" tunica albuginea rétegnek tulajdonítható. Az a szerepe, hogy a régi, már a funkcióját kevésbé ellátó réteget helyettesítse. Az ekkor megfigyelhető két réteg segít különbséget tenni az idei juvenilis és az adult egyedek között, az előbbieknél ugyanis csak egy réteg található (Aire 2006b, Péczely 1987).

A here androgén termelésében fontos szerepet játszó interstitium vastagsága folyamatosan növekedett a tavaszi időszakban és a nyár végi (augusztus II) fotorefrakter periódusban érte el a maximumot. Alacsony értékeket mértek más, szezonálisan szaporodó madárfajokban is; a jelenség oka az, hogy az interstitium hipertrophiáját „elnyomják" a sokkal intenzívebben fejlődő herecsatornácskák. A dzsungel varjú *(Corvus macrorhynchos)* interstitiumanak aránya a szaporodási időszakban bizonyult a legkisebbnek (7,89% a herecsatornácskákhoz képest), a reproduktív időszakon kívűl viszont ennek a többszörösét mérték (44%). A szaporodási időszak előtt a Leydig sejtek és azok sejtmagjai folyamatosan nőttek, a citoplazma pedig zsírcseppekkel telítődött, utalva annak szteroid szintézisére. A szaporodási időszakban kiürültek a sejtek zsíranyagai, ezt követően pedig új vascularis elemek, majd új generációjú sejtek keletkezését írták le (Islam et al. 2010). Hasonlót figyeltek meg vadon élő seregélyekben, ahol méretbeli és jelentős mennyiségi változások jellemezték a Leydig sejteket az éves ciklus során, különös tekintettel a szaporodási időszakban mért maximális értékekre (Temple 1974).

A heretubulusok keresztmetszetének területe jelentős mértékben változott a vizsgált időszakokban. Március végétől (március II) folyamatosan nőtt és április végén (április II) mértük a maximumát, ezt követően csökkent, minimumát augusztus végén (augusztus II) érte el. A heretubulusok méretét illetően, a tavaszi időszakban mért adatok nagyjából azonosak a Temple (1974) által leírtakkal, ugyanakkor ő egy második csúcsértékről (az áprilisi – májusin kívűl) is tesz említést a június végi időszakban. A seregély gyakran költ többször egy évben és ez különösen igaz az USA-ban élőkre. Ez magyarázatot adhat a júniusi második csúcsértékekre. Habár a szakirodalomban általában a heretubulusok átmérőjét használják mérési paraméterként, vizsgálatainkban erre a célra a

csatornácskák keresztmetszetének területét találtuk alkalmasnak. A szexuálisan aktív madarak heretubulusainak keresztmetszete ugyanis gyakran szabálytalan alakú. A teljes felület méretét nem befolyásolja annak alakja, ugyanakkor átmérőjének meghatározása már nehezkéssé válik. Véleményünk szerint a keresztmetszet teljes felületének meghatározása megbízhatóbb és könnyebben kivitelezhető az átlós/átmérős módszernél.

A germinális epithelium, azaz a csírahám vastagsága és az itt található sejttípusok összetétele pontos információt ad számunkra a here spermatogén aktivitásáról. A germinális epithelium vastagsága folyamatosan és szignifikánsan növekedett március II-től április II-ig, majd értéke májusban csökkent, s augusztus végén (augusztus II) érte el minimumát. A minőségi változások kevésbé mutattak ilyen jellegű eloszlást. Március végén – augusztus II-hez viszonyítva - a herefunkcióban minimális, de látható változások következnek be; az elsődleges spermatociták az osztódó csírahámra utalnak. Április I, II és május I időszakokban spermiumokat figyeltünk meg, ugyanakkor a csírahám vastagsága májusban hanyatlásnak indult, ami azt jelzi, hogy a herében ekkor már atretikus folyamatok zajlanak. Fotorefrakter madarak heréjében már csak csírasejteket és spermatogóniumokat találtunk, a csatornácsák lumene morfológiailag teljesen inaktív állapotról tanuskodott. A csírahám, a meiotikus sejtek száma valamint a herecsatornácskák átmérője között pozitív korrelációt mértek különböző madárfajoknál. A sejtek proliferációja és ezzel az egész hám vastagsága a szaporodási időszakban érte el csúcsértéket, a fotorefrakter vagy szexuálisan inaktív periódusban pedig a minimumot, hasonlóan a seregélyekben mértekhez (Baraldi-Artoni et al. 2007, Tae et al. 2005). Természetes fényviszonyok alatt tartott japán fürjeknél több költést is megfigyeltek és ezen időszakokban a csírahám vastagsága valamint a meiotikus sejtek száma szignifikánsan megnőtt. Érdekességként a második költés idején mértek az értékekben nagyobb csúcsot (Baraldi-Artoni et al. 1997, Baraldi-Artoni et al. 1999).

A Leydig sejtek által termelt T befolyásolja a másodlagos ivarjellegek és a tavaszi udvarló magatartás kialakulását, továbbá serkenti a here fejlődését (Péczely 1987). Vizsgálatunkban a seregély T szintje szezonálisan változott. A plazma T koncentrációja folyamatosan növekedett a szaporodási időszakban; csúcsértékeket áprilisban mértünk, amikor a hímek jellemzően magas udvarlási aktivitást mutatnak. Ezt követően a T szint csökkent és a nyár végén (augusztus II) érte el a minimumát. Kísérleti körülmények között a fészekodú és a tojó jelenléte, valamint az odúk sűrűsége/közelsége megnövelte a seregélyek plazmájának T valamint LH koncentrációját (Ball, Wingfield 1987, Gwinner et al. 2002, Pinxten et al. 2003). Március végén még nem minden esetben tudtuk beazonosítani az adott odúhoz az adott hímet, ellenben áprilisban és májusban ezt sikerrel megoldottuk. Márciusban még ugyanis nem minden esetben derült ki az odú tulajdonosa. Áprilisban a hímek intenzíven énekeltek az odúk közvetlen közelében, különösen a tojók jelenlétében, ami megkönyítette számunkra az egyedek fenológiai állapotának beazonosítását és a meglehetősen

homogén csoport kialakítását. Ugyanakkor az áprilisban mért értékeket jellemezte a legnagyobb szórás. Hasonló figyelhető meg más vadon élő seregélyekben is (Dawson 1983, Riters et al. 2001, Temple 1974). Erre az lehet a magyarázat, hogy az adott assay nem minden tartományban mér azonos érzékenységgel, ez különösen vonatkozik az áprilisi kiugróan magas értékekre. Vizsgálatunkban, de más korábbi tanulmányokban is a T legalacsonyabb koncentrációja nyár végére esett, ugyanakkor az ezt követő kora őszi időszakban egy enyhe, nem szignifikáns szintnövekedést figyeltek meg. Ez a jelenség seregély esetében úgy látszik általánosnak mondható, hiszen mind a belgiumi (Riters et al. 2002), mind az angliai (Dawson 1983), valamint az USA-ban (Temple 1974) élő populációkban megfigyelték. Feltehetőleg a fotoszenzitív állapot spontán „visszatérése" (abszolút fotorefrakter madárról van szó) okozhatta ezt a csekély koncentrációnövekedést, ami ugyan nem jár semmilyen here morfológiai változással, viszont felvetődik, vajon az androgén koncentráció növekedése befolyásolja-e a madarak viselkedését ebben az időszakban. A kérdés megoldásához további vizsgálatok szükségesek.

Az itt felsorolt vizsgálatok eredményei arra engednek következtetni, hogy a here funkciójának megállapításakor nem elég annak méretét meghatározni, hanem morfológiai/morfometriai valamint hormon mérést is ajánlatos elvégezni.

5.5. A seregély mellékvese morfológiájának és funkciójának szezonális változása

A madár mellékvese szövettani változásairól már az 1920-as évek elején tesznek említést (Riddle 1923), lehetséges zonációjáról viszont csak a negyvenes évekből vannak adataink (Miller, Riddle 1942). Ennek ellenére, az emlősökhöz képest a madár mellékvesekéreg zónációjáról mind a mai napig kevés információval rendelkezünk, ugyanakkor a szerzők zöme egyetért abban, hogy madarakban valamiféle funkcionális zónáció létezik (Kondics 1963, Mikami et al. 1980, Miller, Riddle 1942, Péczely 1964, Péczely 1972). A vizsgálatok elsősorban morfológiai és morfometriai, esetleg hisztokémiai mérésekkel történtek, ahol a kéreg- és a velőállomány arányát hasonlították össze, továbbá a kéregállomány kötegeinek vastagsága, a sejtekben található lipidcseppek valamint a sejtmagok méretével határozták meg azok állapotát.

Az interrenalis és az adrenalis állomány egymáshoz viszonyított arányát és szezonális változását a kettő hányadosával igyekeztünk demonstrálni. A kéregállomány mindvégig nagyobb arányban fordult elő a velőállományhoz képest. Március végén (március II) az interrenalis/adrenalis hányados viszonylag magas értéke április első felében lecsökkent, majd növekvő tendencia jellemezte a szaporodási időszakban (április I – május II). Augusztus végén (augusztus II) alacsonyabb értéket figyeltünk meg május I-hez képest. Meglehetősen kevés madárfajban írták le az interrenalis/adrenalis hányados szezonális változását. Silverin (1979) szerint a hosszú távolságra

vonuló vándormadarak interrenalis állományának hyperthrophiája kevésbé jellemző a szaporodási időszakban, annál inkább az őszi premigratorikus és migratorikus fázisban (Dusseau, Meier 1971, Lorenzen, Farner 1964). Ezzel ellentétben a maximális gonadális aktivitás egybevág több helyben maradó vagy rövid távolságra vonuló vándormadárfaj kortikális aktivitásának maximumával; pl. seregély (Burger 1938), feketerigó (Fromme-Bouman 1962), tőkés réce (Höhn, Dzubin 1965), rozellapapagáj *(Platycercus eximius)* (Hall 1968), frankolinfürj *(Perdicula asiatica)* (Sudhakumari et al. 2001). A szaporodási időszakban mért adatok nagyjából hasonlóak az itt leírtakkal, ugyanakkor a március végi (március II) viszonylag magas értékeket nehéz megmagyarázni. Elképzelhető, hogy az ekkor mért adatokat a tavaszi vándorlás után kialakult állapot okozhatta. Ebben az időszakban ugyanis a madarak - különösen reggel és este - még kisebb csapatokban mozognak (a migrációs nyugtalanság elemeként).

Habár az eddig megjelent publikációkban elsősorban két zónát írtak le a madár mellékvese kéregállományán belűl, a seregély esetében három, fénymikroszkóppal is elhatárolható zónát különböztettünk meg. Mikami és mtsai (Mikami et al. 1980) csak magát a sejteket vizsgálva, négy sejttípust (a IV. típust degradálódó sejtek képezik) sikerült meghatározniuk japán fürjek kéregállományában. Míg az első típust a periférián, addig a többi három sejttípus a mélyebb régióban figyelték meg. Ultrastruktúrális szinten vizsgálva azt állapították meg, hogy az I. típusú sejtek az emlősök zona glomerulosa, a II. típusú sejtek a zona fasciculata, s a III. típusú sejtek pedig a zona reticularisra emlékeztetnek.

Vizsgálatainkban a mellékveséről készült metszeteken könnyen megkülönböztethető az interrenalis állomány gömbölyded és sötétebb színű perifériás, valamint a hosszú, gyakran radialis lefutású és világosabb, hosszú kötegekből álló középső része. A belső zóna viszonylag nehezen határolható el a középsőtől, ugyanis az előbbi kis „mennyiségben” és gyakran szétszórtan fordul elő elsősorban a szerv középtengelye mentén. Galambon és kacsán végzett kisérletek alapján az interrenalis állomány külső, azaz subcapsularis részen rendszerint nagyobb sejteket lehetett megfigyelni, mint a mélyebben fekvő kötegekben (Miller, Riddle 1942, Pearce et al. 1978). Mikami és mtsai (1980) japán fürjeken végzett kísérletei azt mutatják, hogy az interrenalis állomány perifériás részén egyben nagyobb sejtmagok találhatóak. Kis sándorpapagáj (*Psittacula krameri*) és kormos légykapó *(Ficedula hypoleuca)* esetében viszont a belső zóna sejtmagjai bizonyultak nagyobbnak, függetlenül a madarak fenológiai állapotától (Kumar et al. 2008, Silverin 1979). Vizsgálatainkban nem találtunk szignifikáns különbséget a három zóna sejtmagmérete között egyik időszakban sem.

Az interrenális és adrenális állomány hányadosával ellentétben, a három zóna sejtmagjainak mérete április első felében (április I) mutatott maximális értékeket, majd ezt követően folyamatosan csökkent. Habár mindhárom zónában megfigyelhető volt a szezonális változás, szignifikánsan különbséget csak a középső zóna (zona fasciculata) sejtmagjai mutattak. Burger (1938), a

sejttípusok szezonális gyakoriságában talált eltéréseket a seregélyben. A szexuálisan inaktív periódusban elsősorban spongiocyták (emlősökben a z. fasciculata-ra típikus sejtek) képezték a sejtek többségét, de emellett, különösen a periférián nagy, zsírtalmú sejteket valamint apró, sötét citoplazmával rendelkező sejteket is megfigyelt. A szaporodási időszakban már csak kizárólag spongiocyták jellemezték az interrenalis állományt. Kariometriai méréseket alkalmazva, a szaporodási időszakban nagy sejtmagokat írtak le házi veréb (Bhattacharyya, Ghosh 1965, Moens, Coessens 1970), kormos légykapó (Silverin 1979) kéregállományában, kis sándorpapagájok (Kumar et al. 2008) esetében viszont ekkor mérték a legkisebb értékeket. Érdekes módon habár – házi verebek esetében - tavasszal mindkét zónában növekedésnek indultak a sejtmagok, a centrálisan elhelyezkedők méretükben túlszárnyalták a periférián lévőket, annak ellenére, hogy a szaporodási időszakon kívűl a periférián lévők bizonyultak nagyobbnak (Moens, Coessens 1970).

Emlősökben a DHEA szintézise a mellékvese kéregállományának belső (zona reticularis) zónájában történik. Madarakban még nem egyértelmű annak keletkezési helye, ugyanakkor a szintézisében részt vevő enzimek megtalálhatóak a kéregállományban, továbbá több faj plazmájában is kimutatták jelenlétüket (Bhujle, Nadkarni 1976, Chin et al. 2008, Migues et al. 2002, Soma, Wingfield 2001).

Vizsgálatainkban a plazma DHEA koncentrációja szignifikánsan változott az éves ciklus során, ugyanakkor jóval kisebb mennyiségben volt jelen, mint a T. Csúcsértéket április elején, az udvarlás idején mértünk, a későbbi időszakokban viszonylag alacsony értékek jellemezték. A korai áprilisi (április I) magas értékek valamint annak szignifikáns csökkenése a kotlás idején (április II) arra utalhat, hogy a DHEA (együtt a T-al) serkentik a nászmagatartás kialakulását. Habár Newman és mtsai (2008) nem részletezték a szaporodási időszak konkrét szakaszait, a plazma alacsony DHEA és B szintjét figyelték meg a korai periódus végén énekes verébsármányban. Ennek ellenére a nászmagatartásban betöltött szerepe a – T-hoz viszonyított – viszonylag alacsony DHEA koncentráció miatt kérdéses seregélyben. Ugyanakkor a szexuálisan inaktív periódusban betöltött szerepe még kevésbé egyértelmű. A hím énekes verébsármányok nem csak tavasszal, hanem a szaporodási időszakon kívűl (ősz, tél) is agresszívek, akkor, amikor a plazma T, 5 alpha-dihydrotestosterone, androstenedione (AE) és 17beta-estradiol (E2) szintek a minimális vagy a még mérhető felett vannak. Ekkor viszont a DHEA koncentrációja többszöröse a vérben keringő AE-hoz és T-hoz képest. Továbbá a kasztráció nem befolyásolta a szexuálisan inaktív periódusban jellemző agressziót, ugyanakkor az ARO inhibitorok csökkentették ezt a territoriális viselkedést. A fentiek alapján feltételezhetjük, hogy ennél a fajnál az őszi és a téli agressziót megalapozó ösztrogén feltehetőleg a DHEA-ból származik (Soma, Wingfield 2001). Magas plazma DHEA koncentrációt találtak más madárfajokban is a szaporodási időszakon kívül, mint pl. a foltos hangyászmadárnál (Hau et al. 2004a) és házi lúdban (Xuan et al. 2005). Örvös lúdaknál viszont nem tapasztaltak pozitív korrelációt a DHEA és a szociális/hierarchális konfliktusok gyakorisága között a téli

időszakban (Branta bernicla bernicla) (Poisbleau et al. 2009). Végezetül, habár nem találtunk kölcsönhatást a DHEA és az interrenalis/adrenalis hányados évszakos változása között, a DHEA ellenben mindhárom zóna sejtmagjainak méretével pozitívan korrelált, de leginkább a zona reticularis-al. Figyelembe véve az utóbbit, valamint Mikami és mtsai (1980) megfigyeléseit, arra következtethetünk, hogy madarakban a DHEA – hasonlóan az emlősökhöz – főleg a kéregállomány belső, strukturálisan elhatárolható régióiban termelődhet.

A gerincesek különböző élettani folyamataiban fontos szerepet betöltő szteroid hormon az ugyancsak mellékvesekéreg által termelt B a legfontosabb „stressz hormon". Madarakban, több faj vizsgálata után eltérő eredmények születtek a B szezonális változását illetően (Péczely 1982, Romero 2002). Ezek alapján az állítható, hogy a B magas koncentrációval jellemezhető a szaporodási időszak egyes szakaszaiban, vagy a teljes periódusában, valamint közvetlenül a vándorlás előtt és alatt. Ugyanakkor a vedléskor, fajtól függően teljesen eltérő eredmények születtek.

Méréseinkben a B koncentrációja márciusban volt a legmagasabb, de az udvarlás és a kotlás időszakában (április I, II) is viszonylag magas értékeket figyeltünk meg. Májusban és a nyár végén (augusztus II) a B plazmaszintje elérte a minimumot. Habár az általunk végzett méréskor nem találtunk szignifikáns eltérést a csoportok között, a változás tendenciája azonos Dawson és Howe (1983) seregélyen végzett kutatásaik eredményével. Ennek oka valószínűleg az, hogy a B nem csak éves, hanem jelentős diurnális azaz napi fluktuációt is mutat. A meghatározásnál igyekeztünk a reggeli órákban begyűjtött vérmintákát felhasználni, ugyanakkor a viszonylag alacsony elemszám miatt kénytelenek voltunk szélesebb időintervallumon (nagyjából 8:00-12:00h) belüli mintákat is meghatározni. Ez okozhatta a nagyobb szórásértékeket. Természetes körülmények között élő kormos légykapóknál a szaporodási időszak korai fázisában nem csak a B plazmaszintje nőtt meg, hanem a CBP kapacitása is nagyobbnak bizonyult. Ezt követően, a fiókák kelésekor lecsökent a B koncentrációja. A bőr alá ültetett B implantátumok megnövelték a plazma B szintjét ebben az időszakban, aminek hatására a szülők ritkábban etették fiókáikat, s emiatt kevesebb utódot neveltek fel. Továbbá nem csak rosszabb szülőknek bizonyultak, hanem a territóriumukat is előbb hagyták el, azaz csökkent a territorium védő viselkedésük is (Silverin 1986).

Úgy tűnik, hogy a B szezonális szabályozása elsősorban a mellékvese szezonálisan változó „érzékenységén" múlik. Gambel koronás verébsármány *(Zonotrichia leucophrys gambelii)* és sarkantyús sármány *(Calcarius lapponicus)* a tavaszi időszakban magas, vedléskor viszont alacsony plazma B koncentrációja jellemzi. Exogén ACTH, vasotocin (madár vazopresszin), corticotrophin-releasing factor (CRF) vagy mesotocin (madár oxitocin) alkalmazása a vedlés idején is csak mérsékelt B szintnövekedést eredményezett (Romero et al. 1998, Romero, Wingfield 1998). Dawson és Howe (1983) - vizsgálatunkhoz hasonlóan - nyár végén mértek minimális B

plazmaszintet, de az ősz folyamán már újabb (tavaszhoz hasonló) koncentrációnövekedésről számolnak be seregélyekben.

5.6. A szezonálisan változó androgének aromatizációja az agyban

Az androgének ösztrogénekké való átalakítása – más néven aromatizáció - fontos, mondhatni nélkülözhetetlen szerepet játszik a reproduktív viselkedés különböző formáinak szabályozásában (Balthazart, Surlemont 1990, Schlinger, Callard 1989). Ennek a folyamatnak az elsődleges helyszíne a POA és az ezen belül található POM. Az androgén (AR) és ösztrogén receptorokban (ER_α és ER_β) gazdag POM léziója, vagy az itt nagy mennyiségben megtalálható aromatáz sejtek blokkolása meggátolta a madarak udvarló és párzó magatartását is (Alger et al. 2009, Balthazart et al. 1998, Balthazart et al. 1997).

Vizsgálatainkban seregélyeken sikerült kimutatni, hogy az ARO-ir sejtek száma a hypothalamikus POA/POM területen szezonálisan változott; azaz legnagyobb mennyiségben a szaporodási időszak legintenzívebb szakaszában (április I és II) volt jelen, míg a szexuálisan inaktív periódusban (augusztus II) szinte alig találtunk immunreaktív sejteket. Továbbá, megfigyeltük, hogy tavasszal a sejtfestődés intenzitása párhuzamosan erősödött a sejtszám növekedésével. Érdekesnek találtuk, hogy májusban a fiókák kelésekor a hímek szinte teljesen megszüntették az éneklést, annak ellenére, hogy az AA a márciusi értékekhez hasonló szinten mozgott. A T-t inaktív metabolittá alakító 5β-reduktáz - az ARO-val ellentétben - májusban mutatott maximális értékeket a telencephalonban (Riters et al. 2001). Az utóbbi miatt, vagy esetleg az agy megváltozott szenzitivitása (pl. AR és/vagy $ER_{\alpha, \beta}$ downregulációja) okozhatta az udvarló magatartás megszünését ebben az időszakban (Gahr 2001).

Fogságban, de természetes fényviszonyok mellett tartott hím seregélyek már októberben elkezdtek énekelni, igaz sokkal ritkábban, mint áprilisban, a fészkelési időszakban. Míg tavasszal nagyon erős ARO aktivitás jellemezte a POM-ot, addig az őszi időszakban csak nehány immunreaktív sejtet sikerült megfigyelni (Riters et al. 2000). A magas AA más fajokra is jellemző a tavaszi szaporodási időszakban. Énekes verébsármányokban (Wacker et al. 2010) és kormos légykapóban (Foidart et al. 1998) magasabb ARO expressziót figyeltek meg tavasszal a POA és a medialis preopticus area/medialis bed nucleus of stria terminalis (mPOA/BSTm) régión belül a vedlő és a szexuálisan inaktív hímekhez képest. Ugyanakkor az általuk vizsgált agyterületekben egyedül a hypothalamikus ventromedialis nucleus-ban (VMH) találtak magas AA-t a szexuálisan inaktív periódusban. A szerzők szerint a szaporodási időszakon kívűli agresszióért valószínűleg a VMH-ban található ösztrogénfüggő mechanizmusok lehetnek a felelősek. Ez a hipotézis viszont nem ad magyarázatot a seregély ének szabályozásáért a szexuálisan inaktív időszakban. Habár Riters és mtsai (2000) csak a

POM (rostralis és caudalis) részeket vizsgálták, nem számoltak be AA-ról a VMH-ban, annak ellenére, hogy az utóbbi és a caudalis POM egy metszési síkon találhatóak. Eredményeinkhez hasonlóan, de enzim assay-t alkalmazva magas AA figyeltek meg vadon élő seregélyek anterior és posterior hypothalamusában tavasszal, áprilisi csúcsértékkel. Ugyanakkor, míg az előbbi áreákban alacsony, addig a telencephalonban magas AA mértek télen (Riters et al. 2001). Habár ARO-ir sejteket eddig még nem figyeltek meg a telencephalikus énekszabályozó magokban, azok nagy mennyiségben találhatóak a hippocampusban és a neostriatumban, amelyek körbeveszik a madárének egyik kulcsfontosságú szabályozó központját, a HVC-t (Fusani et al. 2001). A neostriatum egyben AR-ban és ER_{β}-ban, a HVC pedig ER_{α}.-ban gazdag.

Figyelembe véve az itt felsorolt eredményeket valamint saját megfigyeléseinket, arra következtethetünk, hogy tavasszal az udvarló magatartás kiváltója, elsősorban a POA/POM régióban lezajló T $\rightarrow$ E2 átalakítás lehet. A szaporodási időszakon kívüli vokalizáció vagy ének nagy valószínűséggel telencephalikus, esetleg VMH kontrol alatt állhat és ugyancsak ösztrogénfüggő. Ebben az esetben az E2 vagy *de novo* agyban szintetizálodik, vagy esetleg plazma eredetű DHEA-ból keletkezhet.

5.7. A hím seregély udvarlásának mintázata és énekének szezonális változása

A madárének egzakt módon történő elemzése spektrográf segítségével már az 50-es években elkezdődött (Thorpe 1954), ennek ellenére a részletes vizsgálatok csak néhány fajra korlátozódtak. A zebrapinty, a kanári madár, valamint a sirálykapinty (Lonchura domestica) fajok (a sirálykapinty egy hibrid) képezik ezen tanulmányok több mint kétharmadát (Williams 2004). Az ének mechanizmusok vizsgálatához ezek a madarak kétségkívül alkalmasak, hiszen már kevésbé tartanak az ember közelségétől, könnyen tenyészthetőek, ugyanakkor az akár több évszázados beltenyésztés és domesztikáció (pl. sirálykapiny) miatt kérdéses, hogy az adott viselkedésmintázatok és éneklésük mennyire tükrözik a madarak eredeti fenotípusát és mennyire köszönhetik ezt a mesterséges szelekciónak. Etológiai szempontból mindenképen fontos, vadon élő fajok természetes körülmények között való megfigyelése is. Szándékunk volt, hogy az olyan szezonálisan szaporodó madárfaj, mint a seregély udvarló viselkedésmintázatát és énekét összehasonlítsuk a fent leírt élettani változások tükrében.

Vizsgálatainkban a hím seregélyek átlagos énekhossza folyamatosan nőtt a tavaszi szaporodási időszakban és az esetek többségében az ének két típusú szárnymozgással párosult. Habár a szárny-villantás a költés alatt, végig megfigyelhető volt, a tojók közelsége mellett, főleg áprilisban a szárny-rotálása volt inkább jellemző. A fiókák kelésekor (május I) drasztikusan lecsökkent az éneklési aktivitás a szárny-villantással/rotálással együtt. Történt ez mind annak ellenére, hogy még

mérsékelten magas plazma androgénkoncentrációval és hypothalamikus AA-al rendelkeztek. Eens és kollégái (1990) hasonlót figyeltek meg tavasszal fogságban élő seregélyeken, miszerint a hímek szárny-rotálása és az ének szignifikánsan csökkent, miután az utolsó tojás lerakása is megtörtént. Ezeknek a viselkedés mintázatoknak (ének, szárnymozgás) az elsődleges szerepe tehát a tojó figyelemfelkeltése különösen, ha az már a közvetlen közelben tartózkodik. Tojók preferenciája a hosszabb éneket produkáló hímek felé irányúl. A hosszabb ének ugyanis tapasztalt, nagyobb súlyú, erős hímekre jellemző (Gentner, Hulse 2000). Ez történik áprilisban, amikor a hímek hosszú énekkel igyekeznek magukra hívni a tojók figyelmét. A nyár végi szexuálisan inaktív időszakban (augusztus II) nem találtunk a fajra és a tavaszi időszakra jellemző (fa csúcsán ülő és aktívan éneklő) udvarló hím egyedeket. Ugyanakkor több ezer madarat lehetett megfigyelni ebben az időben amint óriási csapatokban (különböző korú és ivarú) és nagy hangzavar közepette szálltak le az éjszakai menedéket nyújtó nádasokba. Sajnálatosan az egy időben vokalizáló (nem éneklő) madarak hanganalízise és azt valamilyen rendszerbe való foglalása lehetetlenné vált, mert a nagy hangzavarban nem tudtuk különválasztani az egyéneket. A szárny-rotálást, valamint a szárny-villantást nem figyeltünk meg ebben az időszakban.

A nem szexuális motivációjú vokalizáció (szexuálisan inaktív időszak) fontos szerepet játszik a nagy csapatok összetartásában, valamint a csapaton belüli hierarchiák kialakításában és fenntartásában (Hausberger et al. 1995, Wiley et al. 1993). Tavasszal a hímek növekvő énekaktivitása egybevág a tojók fertilitási periódusával. Van Hout (2009) és kollégái kimutatták, hogy az intakt hímek hosszabb énekeket produkáltak, mint a kasztráltak, valamint tavasszal mindkét csoportra a hosszabb ének volt jellemző az őszi időszakkal összevetve. Továbbá, miközben a kasztráltak énekrepertoár mérete nem változott az éves ciklus folyamán, addig az intakt hímeké megnőtt az ősz-tavasz időszakban. Úgy tűnik, hogy a szezonális T változás másként befolyásolja a különböző madárének jellegét, annak összetételét. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy ebben a tanulmányban csak két csoportot hasonlítottak össze (tavasz: március közepe, ősz: október közepe) és más androgéneket vagy ARO aktivitást nem vizsgáltak meg.

Az eredményeket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a doktori disszertációmban alkalmazott módszerek alkalmasak szabadon élő madarak szaporodásának tanulmányozására. A nem laboratóriumi viszonyok (perfúziós fixálás) mellett izolált és fixált szövetek ellenére is jó minőségű mintákat kaptunk. Továbbá, a természetes táplálék jelenléte miatt ezek a vizsgálatok alkalmasak a madarak általános kondíciójának felmérésére. Végül figyelembe véve az irodalmi adatokat, melyek szerint a fogság okozta stressz megváltoztatja a hormonháztartást, javasoljuk – a laboratóriumi kísérleteket megelőzően - a madarak biológiájának vizsgálatát szabad/vad körülmények között.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A dolgozatban sikerült egy átfogó szaporodásbiológiai vizsgálatot elvégezni vadon élő hím seregélyeken. A munkánk során született új eredmények a következőek:

1. Igazoltuk a GnRH-I szezonális expresszióját vadon élő hím seregélyek POA-jában és EM-jában immuncitokémiai módszerrel. Habár tavasszal nem találtunk szignifikáns eltérést a POA GnRH-I immunreaktivitásában, jelentős változást figyeltünk meg a sejttestek és a rostok eloszlásában.

2. Morfológiai és morfometriai módszerekkel igazoltuk a seregély mellékvese interrenalis állományának szerkezeti tagoltságát, három zóna elhatárolásával.

3. Bizonyítottuk, hogy a kéregállomány mindhárom zónájában, de különösen a középső zónában – a sejtmagok mérete szezonálisan változik seregélyekben. Továbbá, a maximális értékeket a szaporodási időszakban mértük.

4. Seregélyekben igazoltuk a plazma DHEA koncentrációjának szezonális változását, továbbá bizonyítottuk annak összefüggését a mellékvese kéregállományával. Különösen a belső zóna (az emlősök zona reticularis-val homológ) sejtmagjainak méretével mutatott erős korrelációt.

5. Nyár végén, a POA-ban minimális ARO immunreakciót mértünk. Ezzel igazoltuk, hogy az augusztusi vokalizációért nem a POA AA-a lehet a felelős.

6. Részletesen leírtuk a seregély éneket kísérő szárnymozdulatokat (szárny-villantás, szárny-rotálás) és azok szezonális előfordulását.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A mérsékelt és a hideg égövön élő madarak szaporodását nagymértékben befolyásolják a környezeti tényezők – elsősorban a nappalok hosszának – éves alakulása. A szaporodás időzítése úgy alakul, hogy az utódok a lehető legoptimálisabb periódusban jöjjenek a világra. A folyamat szabályozása, egy komplex, a központi és a perifériás rendszerek összehangolt működése alatt áll. Vizsgálatainkban kíváncsiak voltunk, hogyan változik szezonálisan a hypothalamikus GnRH-I expressziója és miként követik azt a here és a mellékvese funkcionális és morfológiai változásai. Továbbá, összefüggést kerestünk a periférián keletkezett szteroidok és azok hypothalamikus konvertálása, valamint a viselkedés különböző paraméterei között. Célunk az volt, hogy természetes körülmények között, vadon élő madárfajt vizsgáljunk, hiszen a nagy mennyiségű irodalmi adat alátámasztja azt a tényt, miszerint a fogságban vagy a háziasítás során a fent említett biológiai folyamatok átalakultak vagy éppen visszaszorultak.

Kísérleteinkben vadon élő hím seregélyeket *(Sturnus vulgaris)* használtunk. Ezeknek a madaraknak az egész éves ciklusát a szezonalitás jellemzi. Továbbá, gyakori fészkelők Magyarországon, nem esnek védelem alá, így begyüjtésük megoldható volt. Öt időpontban végeztük a vizsgálatokat: március vége (március II, fotoszenzitív), április eleje (április I, udvarlás), április vége (április II, tojásrakás), május első fele (május I fiókák kelése) és augusztus vége (augusztus II, fotorefrakteritás).

A madarak szaporodását befolyásoló három legfontosabb külső tényező évszakos alakulását vizsgáltuk, ezek: nappalok hossza, hőmérséklet és csapadékmennyiség. Magyarországon, jellemzően mindhárom paraméter haranggörbe eloszlást mutat, nyári csúcsértékekkel. Az irodalmi adatok szerint seregélyeknél a 12-13h megvilágítás (ez Magyarországon április első fele) már szignifikánsan stimulálja a gonádérést, ugyanakkor a hőmérséklet és a csapadék, mint finomhangolók határozzák meg a fészkelés időpontját.

A madarak általános kondícióját a testsúly, valamint a zsírsejtek méretével határoztuk meg. Mindkét paraméter szezonálisan változott, ugyanakkor a súly alakulását markánsabb különbségek jellemezték. Az udvarlási időszakban (április I) figyeltünk meg maximum, a fiókák kelésekor (május I) pedig minimum értékeket. Nyár végén, (augusztus II) nem szignifikáns, de növekvő tendenciát mértünk a madarak súlyában. Ez valószínűleg a vándorlásra való felkészülés előjele.

A megvilágítás (nappalok hossza) időtartamára közvetett módon rendkívűl érzékeny GnRH-I-ir sejtek expressziós szintjét immuncitokémiai módszerrel vizsgáltuk. Az immunpozitív sejtek számának meghatározása helyett a denzitást (sejttest + rost) és a sejtnagyságot mértük. Az utóbiakkal nagyobb pontossággal becsülhettük meg az immunreakció erősségét, főleg az április I május I időszakban. A tavaszi periódusban maximum, míg augusztus végén minimum értékeket

figyeltünk meg, mind a POA-ban (sejttest, rost), mind az EM-ban (rost). Habár tavasszal nem találtunk szignifikáns különbséget a csoportok között, március végén – az erősen festődő sejttestek mellett - feltűnően kevés rostot észleltünk a POA-ban és a EM-ban. Feltételezésünk szerint ezt az állapotot már erős GnRH-I szintézis, de visszafogott transzport és release jellemzi.

Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a herefunkciónál nem elég pl. csak a szerv méretét megadni, hanem azon morfológiai, morfometriai és hormonanalitikai vizsgálatokat ajánlott elvégezni a pontos meghatározás érdekében. A herék térfogata, a tubulusok keresztmetszetének területe, a germinális epithelium vastagsága és összetétele, valamint a plazma T koncentrációja mind szabályos szezonalitást mutattak. Csúcsértékeket áprilisban és májusban, legkisebb értéket pedig a fotorefrakteritás idején mértünk. Az interstitium és a heretok legnagyobb hányadát kitevő tunica albuginea vastagsága viszont augusztusban mutattak maximumot. Az előbbit tavasszal „elnyomja" a rohamosan fejlődő herecsatornácskák mennyisége, az utóbbit a szexuálisan inaktív időszakban pedig már két réteg alkotja; a korábbi és az alatta képződő új tunica. A herecsatornácskák méretének meghatározásánál, véleményünk szerint alkalmasabb a keresztmetszet teljes felületének meghatározása, mint annak átmérője/átlója, különösen, hogy a csatornácskák nagymértékben változtatják az alakjukat.

A mellékvese szövettanát morfológiai és funkcionális változások jellemezték az éves ciklus során. Az interrenalis/adrenalis hányados április I csökkent, majd ezt követően nőtt a szaporodási periódus további időszakában. Az interrenalis állomány három zónájában a sejtmagok áprilisban érték el maximumot. A plazma DHEA koncentrációja az udvarlás időszakában (április I) mutatott csúcsértéket, a tojásrakáskor viszont szignifikánsan lecsökkent és nem változott a vizsgált időszak végéig. A plazma B szintjében március végén mértünk maximumot, ezt követően folyamatosan csökkent. Habár a B és a kéregállomány morfológiája között nem találtunk összefüggést, a DHEA ugyanakkor pozitívan korrelált mindhárom zóna sejtmagméretével, különösképpen a belső zónával.

A hypothalamikus T $\rightarrow$ E2 való átalakítása, hasonlóan az előzőekhez szabályos szezonalitást mutatott a vizsgált időszakokban. A legtöbb ARO-ir sejtet áprilisban (április I, II), míg augusztus végén csak néhány gyengén festődő sejtet mértünk.

A hím seregélyek – a nyári fotorefrakteritást kivéve - egész évben énekelnek, ugyanakkor az udvarló jellegű ének csak tavasszal, a szaporodási időszakban figyelhető meg. Ekkor az éneket más udvarló mintázatok, seregély esetében a szárnymozgások (szárny villantás és szárny rotálás) is követik. Az átlagos énekhossz áprilisban mutatott maximumot, továbbá a szárnymozdulatok (különösen a szárny rotálás) gyakoriságát a tojó jelenléte fokozta. A fiókák kelésekor és etetésük megindulásakor (május I) minimálisra csökkent a hímek ének aktivitása, annak ellenére, hogy még meglehetősen magas plazma T szint és hypothalamikus AA jellemezte őket. Augusztus végén a

madarak már nem énekeltek, a vokalizációjuk ekkor valószínűleg a csapat összetartását és/vagy a hierrarchia kialakítását segíti. Szárnymozgásokat ekkor nem figyeltünk meg.

Eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az itt alkalmazott módszerek alkalmasak szabadon élő madarak szaporodásának tanulmányozására. Figyelembe véve az irodalmi adatokat, melyek szerint a szabad környezetből kiragadott madarakban megváltozik az alapvető endokrinológiai miliő, javasoljuk – a laboratóriumi kísérleteket megelőzően - a madarak biológiájának vizsgálatát szabad/vad körülmények között.

8. SUMMARY

The breeding of most birds from the temperate and cold zones is affected by the annual/seasonal change of climatic factors, especially the daylength. The main goal of reproduction is to bring forth the offsprings at the most optimal time. This process is under the control of complex central and peripheral aligned functions. The aim of our study was to define the seasonal expression of the GnRH-I-ir cells followed by the changes in the testicular and adrenal structure and functional morphology. Furthermore, we were interested in relationships among peripheral steroids and their hypothalamic conversion by aromatase enzyme, together with changes in the sexual behavior (song and wing movements). As there are more evidences that captivity and domestication changed these biological processes, we intended to make our study on wild, free-living birds.

In our study we used free-living European starlings (Sturnus vulgaris). Their whole annual cycle is characterized by seasonality. Furthermore, these birds are common in Hungary and they are not under the protection of environmental law. The birds composed five groups: second half of March (photosensitive, March II), first half of April (pair formation, April I), second half of April (nesting, April II), first half of May (hatching of nestlings, May I) and second half of August (photorefractory, August II).

We presented here three climatic factors (daylength, temperature and rainfall) and their seasonal variations. In Hungary all these parameters showed Gaussian distribution with a peak during summer. Former publications demonstrated that 12-13h (first half of April in Hungary) exposure to daylight significantly stimulated gonadal maturation, but then temperature and rainfall (as ultimate factors) determined the precise timing of nesting in starlings.

The general condition of birds was defined from their weights and the size of abdominal fat cells. Both parameters showed seasonal fluctuations, however the change of body weight was more markedly pronounced. We observed maximum during pair formation (April I) and minimum values at hatching (May I). There was a tendency (but not significant) for increase – especially the body weight - in the end of summer (August II). This could be because of the beginning of fat deponing (premigratory fattening) before autumnal migration.

The seasonal expression of GnRH-I cells was measured by immunohistochemistry. In place of counting of immunpositive cell numbers, we determined the integrated density (perikarya and fibers) and the size of cells. From these latters we could estimated the development of immunoreactivity with higher accuracy, especially during sexually active period. Both in POA (perikarya, fibers) and EM (fibers) we measured high activity in spring and lowest values in August II. Although we didn't found significant differences among groups during spring, in March II – beside the strongly stained perikarya – only few amount of fibers were observed in the POA and

EM. In our assumption this stage is characterized by high degree of GnRH-I synthesis, but moderate transport and release.

We showed here that the functions of testis could not be interpretated only by their size, but morphological, morphometrical and physiological examinations are also needed toward the completeness. The volume of testes (left and right), the area of the cross sections of the seminipherous tubules, the thickness of the germinal epithelium and cell type in it, as well as plasma T concentrations showed seasonal variations. The peak was found during April and May and lowest values in photorefractory birds (August II). However, the thickness of interstitium and the tunica albuginea (main component of the testicular capsule) were highest in August II. In spring the interstitium is supressed by apace growing of the seminiferous tubules. At the end of summer (August II) the higher thickness of tunica albuginea is due to that it is composed of two layers that time. At the measuring of the size of seminipherous tubules, we suggest measuring the area of cross section, rather than diameter, because it can dramatically change it's shape during the season.

The morphology and function of the adrenal gland in the starlings also showed seasonal variations. The interrenal/adrenal ratio decreased in April I, then started to increase in the rest of the reproductive period. The interrenal tissue showed zonation with three separate regions. The size of the nuclei were the highest in April. Plasma DHEA concentrations peaked during pair forming (April I), significantly decreased at nesting (April II) and did not change during rest of the examined periods. Plasma B levels were highest in March II, then continually decreased. Although we did not found relationship between B and the morphology of the interrenal tissue, there were positive correlations between DHEA and the size of the nuclei in all three zones, especially in the inner zone.

The hypothalamic (POA/POM) T $\rightarrow$ E2 conversion is controlled by the ARO enzyme. We found the highest number of ARO-ir cells in April (April I, II), while there was only few weakly stained cells in the end of summer (August II).

Male starlings – except when they are photorefractory – sing during whole year, however courtship singing could be seen only in spring. This behavior comes forward together with the wing movements (wing-flicking and wing-waving). We measured maximum average song bout length in April (pair formation and nesting), furthermore the rate of wing movements (especially the wing-waving) were increased when the females were nearby. At the hatching of nestlings (May I) the song activity of males decreased to minimum, although plasma T concentration and hypothalamic AA were high. At the end of August birds did not sing anymore, at that time the vocalisation was observed only at roosting. It is hypothesized that it serves to make flock cohesion and/or mantain hierarchies between the flock. Wing movements could not be found that time.

Summarizing our results we can conclude that the methods applied here are suitable for studying the reproduction of free-living birds. Taking into account the literature data showing that bird taken out of its natural environment changes its basic endocrine milieu, we would like to propose first - before experiments in the laboratory - the study of biology on free-living animals.

9. MELLÉKLETEK

M1. : Irodalomjegyzék

Aire T. A. (1980): Morphometric study of the avian adrenal gland. *J Anat,* 131 (Pt 1) 19-23. p.

Aire T. A. (2006a): Anatomy of the testis and male reproductive tract. 37-115. p. In Barrie G. M. Jamieson (Szerk.): *Reproductive biology and Phylogeny in birds*. Enfield, USA: Science Publishers, 609. p.

Aire T. A. (2006b): Spermatogenesis and testicular cycles. 279-379. p. In Barrie G. M. Jamieson (Szerk.): *Reproductive biology and Phylogeny in birds*. Enfield, USA: Science Publishers, 609. p.

Aire T. A., Ozegbe P. C. (2007): The testicular capsule and peritubular tissue of birds: morphometry, histology, ultrastructure and immunohistochemistry. *J Anat,* 210 (6) 731-40. p.

Alger S. J., Maasch S. N., Riters L. V. (2009): Lesions to the medial preoptic nucleus affect immediate early gene immunolabeling in brain regions involved in song control and social behavior in male European starlings. *Eur J Neurosci,* 29 (5) 970-82. p.

Amirat Z., Khammar F., Brudieux R. (1980): Seasonal changes in plasma and adrenal concentrations of cortisol, corticosterone, aldosterone, and electrolytes in the adult male sand rat (Psammomys obesus). *Gen Comp Endocrinol,* 40 (1) 36-43. p.

Astheimer L. B., Buttemer W. A., Wingfield J. C. (2000): Corticosterone treatment has no effect on reproductive hormones or aggressive behavior in free-living male tree sparrows, Spizella arborea. *Horm Behav,* 37 (1) 31-9. p.

Ayre E. A., Pang S. F. (1994): 2-[125I]iodomelatonin binding sites in the testis and ovary: putative melatonin receptors in the gonads. *Biol Signals,* 3 (2) 71-84. p.

Ball G. F., Wingfield J. C. (1987): Changes in plasma levels of luteinizing hormones and sex steroid hormones in relation to multiplebroodedness and nest site density in male starlings. *Physiol. Zool.,* 60 (2) 191-199. p.

Balthazart J. et al. (1998): Appetitive and consummatory male sexual behavior in Japanese quail are differentially regulated by subregions of the preoptic medial nucleus. *J Neurosci,* 18 (16) 6512-27. p.

Balthazart J., Arnold A. P., Adkins-Regan E. (2009): Sexual differentiation of brain and behavior in birds. Academic Press, 1745-1787 p.

Balthazart J., Castagna C., Ball G. F. (1997): Aromatase inhibition blocks the activation and sexual differentiation of appetitive male sexual behavior in Japanese quail. *Behav Neurosci,* 111 (2) 381-97. p.

Balthazart J. et al. (1996): Effects of testosterone and its metabolites on aromatase-immunoreactive cells in the quail brain: relationship with the activation of male reproductive behavior. *J Steroid Biochem Mol Biol,* 56 (1-6 Spec No) 185-200. p.

Balthazart J., Schumacher M., Evrard L. (1990): Sex differences and steroid control of testosterone-metabolizing enzyme activity in the quail brain. *J Neuroendocrinol,* 2 (5) 675-83. p.

Balthazart J., Surlemont C. (1990): Androgen and estrogen action in the preoptic area and activation of copulatory behavior in quail. *Physiol Behav,* 48 (5) 599-609. p.

Banks F. C. et al. (2006): Smooth muscle and purinergic contraction of the human, rabbit, rat, and mouse testicular capsule. *Biol Reprod,* 74 (3) 473-80. p.

Baraldi-Artoni S. M. et al. (2007): Morphometric study of Rynchotus rufescens testis throughout the year. *Braz J Biol,* 67 (2) 363-7. p.

Baraldi-Artoni S. M. et al. (1997): The annual testicular cycle of the domestic quail (Coturnix coturnix japonica). *Anat Histol Embryol,* 26 (4) 337-9. p.

Baraldi-Artoni S. M. et al. (1999): Seasonal morphology of the domestic quail (Coturnix coturnix japonica) testis. *Anat Histol Embryol,* 28 (4) 217-20. p.

Barrientos R. et al. (2007): Temperature but not rainfall influences timing of breeding in a desert bird, the trumpeter finch (Bucanetes githagineus) *Journal of Ornithology,* 148 (4) 411-416. p.

Belle M. D., Lea R. W. (2001): Androgen receptor immunolocalization in brains of courting and brooding male and female ring doves (Streptopelia risoria). *Gen Comp Endocrinol,* 124 (2) 173-87. p.

Bentley G. E. et al. (2004): Evidence for a novel gonadotropin-releasing hormone in hypothalamic and forebrain areas in songbirds. *Brain Behav Evol,* 63 (1) 34-46. p.

Bentley G. E. et al. (2000): Photoperiodic regulation of the reproductive axis in male zebra finches, Taeniopygia guttata. *Gen Comp Endocrinol,* 117 (3) 449-55. p.

Berthold A. A. (1849): Transplantation der Hoden. *Arch. Anat. Physiol.,* 42-46. p.

Bhattacharyya T. K., Ghosh A. (1965): Seasonal histophysiologic study of the interrenal of the house sparrow. *Acta Biol Acad Sci Hung,* 16 (1) 69-77. p.

Bhattacharyya T. K., Sinha D., Ghosh A. (1972): A comparative histological survey of the avian adrenocortical homologue. *Arch Histol Jpn,* 34 (5) 419-32. p.

Bhujle B. V., Nadkarni V. B. (1976): Steroid dehydrogenases in the adrenal gland of four species of birds: a histochemical study. *Histochem J,* 8 (6) 591-6. p.

Bluhm C. K. et al. (1991): Variation in hypothalamic gonadotrophin-releasing hormone content, plasma and pituitary LH, and in-vitro testosterone release in a long-distance migratory bird, the garden warbler (Sylvia borin), under constant photoperiods. *J Endocrinol,* 128 (3) 339-45. p.

Brenowitz E. A., Arnold A. P. (1985): Lack of sexual dimorphism in steroid accumulation in vocal control brain regions of duetting song birds. *Brain Res,* 344 (1) 172-5. p.

Breucker H. (1978): Macrophages, a normal component in seasonally involuting testes of the swan, Cygnus olor. *Cell Tissue Res,* 193 (3) 463-71. p.

Brown N. L. et al. (1975): Chicken gonadotrophins: their effects on the testes of immature and hypophysectomized japanese quail. *Cell Tissue Res,* 156 (4) 499-520. p.

Bullough W. S. (1942): The reproductive cycles of the british and continental races of the starling (Sturnus vulgaris L.). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London,* 231 (580) 165-246. p.

Burger J. W. (1938): Cyclic changes in the thyroid and adrenal cortex of the male starling sturnus vulgaris and their relation to the sexual cycle. *Amer. Natur.,* 72 562-570. p.

Calisi R. M., Bentley G. E. (2009): Lab and field experiments: are they the same animal? *Horm Behav,* 56 (1) 1-10. p.

Carmichael S. W. et al. (1983): The effect of a MAO inhibitor on reserpine-induced secretion of catecholamines from the adrenal medulla of the rose-ringed parakeet. *Cell Tissue Res,* 229 (2) 309-16. p.

Carsia R. V., Harvey S. (2000): Adrenals. 489-537. p. In: Causey Whittow G.: *Sturkie's Avian Physiology.* Honolulu, U.S.A., Elsevier Inc., 685. p.

Catchpole C. K., Slater P. J. B. (1995): Bird Song: Biological Themes and Variations. Cambridge University Press, 256. p.

Charlier T. D., Ball G. F., Balthazart J. (2008): Rapid action on neuroplasticity precedes behavioral activation by testosterone. *Horm Behav,* 54 (4) 488-95. p.

Chernel I. (1899): Magyarország madarai különös tekintettel gazdasági jelentőségökre. Budapest, Magyarország, Franklin-Társulat Nyomdája, 830. p.

Chin E. H. et al. (2008): Sex differences in DHEA and estradiol during development in a wild songbird: Jugular versus brachial plasma. *Horm Behav,* 54 (1) 194-202. p.

Cho R. N. et al. (1998): Seasonal variation in brain GnRH in free-living breeding and photorefractory house finches (Carpodacus mexicanus). *Gen Comp Endocrinol,* 109 (2) 244-50. p.

Clulow J., Jones R. C. (1982): Production, transport, maturation, storage and survival of spermatozoa in the male Japanese quail, Coturnix coturnix. *J Reprod Fertil,* 64 (2) 259-66. p.

Cockrem J. F. et al. (2010): Plasma corticosterone responses to handling in Japanese quail selected for low or high plasma corticosterone responses to brief restraint. *Br Poult Sci,* 51 (3) 453-9. p.

Connolly P. B., Callard I. P. (1987): Steroids modulate the release of luteinizing hormone from quail pituitary cells. *Gen Comp Endocrinol,* 68 (3) 466-72. p.

Contijoch A. M. et al. (1992): Dopaminergic regulation of luteinizing hormone-releasing hormone release at the median eminence level: immunocytochemical and physiological evidence in hens. *Neuroendocrinology,* 55 (3) 290-300. p.

Cowles R. B., Nordstrom A. (1946): A Possible Avian Analogue of the Scrotum. *Science,* 104 (2712) 586-7. p.

Crouch J. E. (1939): Seasonal Changes in the Testes of the Passerine Bird, Phainopepla nitens lepida. *Exp Biol Med* 40 (2) 218-221. p.

Cumming D. C., Quigley M. E., Yen S. S. (1983): Acute suppression of circulating testosterone levels by cortisol in men. *J Clin Endocrinol Metab,* 57 (3) 671-3. p.

Davidson N., Evans P. (1988): Prebreeding accumulation of fat and muscle protein by Arctic nesting shorebirds. *Proc. Int. Ornithol. Conf.,* 19 342-352. p.

Davis J. R., Langford G. A., Kirby P. J. (1970): The testicular capsule. Academic Press, p.

Dawson A. (1983): Plasma gonadal steroid levels in wild starlings (Sturnus vulgaris) during the annual cycle and in relation to the stages of breeding. *Gen Comp Endocrinol,* 49 (2) 286-94. p.

Dawson A. (2005a): The effect of temperature on photoperiodically regulated gonadal maturation, regression and moult in starlings - potential consequences of climate change. *Functional Ecology,* 19 (6) 995-1000. p.

Dawson A. (2005b): Seasonal differences in the secretion of luteinising hormone and prolactin in response to N-methyl-DL-aspartate in starlings (Sturnus vulgaris). *J Neuroendocrinol,* 17 (2) 105-10. p.

Dawson A. (2006): Control of molt in birds: association with prolactin and gonadal regression in starlings. *Gen Comp Endocrinol,* 147 (3) 314-22. p.

Dawson A. (2007): Seasonality in a temperate zone bird can be entrained by near equatorial photoperiods. *Proc Biol Sci,* 274 (1610) 721-5. p.

Dawson A. (2008): Control of the annual cycle in birds: endocrine constraints and plasticity in response to ecological variability. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci,* 363 (1497) 1621-33. p.

Dawson A. et al. (1985): Hypothalamic gonadotrophin-releasing hormone and pituitary and plasma FSH and prolactin during photostimulation and photorefractoriness in intact and thyroidectomized starlings (Sturnus vulgaris). *J Endocrinol,* 105 (1) 71-7. p.

Dawson A., Goldsmith A. R. (1983): Plasma prolactin and gonadotrophins during gonadal development and the onset of photorefractoriness in male and female starlings (Sturnus vulgaris) on artificial photoperiods. *J Endocrinol,* 97 (2) 253-60. p.

Dawson A., Goldsmith A. R. (1984): Effects of gonadectomy on seasonal changes in plasma LH and prolactin concentrations in male and female starlings (Sturnus vulgaris). *J Endocrinol,* 100 (2) 213-8. p.

Dawson A., Goldsmith A. R. (1997): Changes in gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-I) in the pre-optic area and median eminence of starlings (Sturnus vulgaris) during the recovery of photosensitivity and during photostimulation. *J Reprod Fertil,* 111 (1) 1-6. p.

Dawson A., Howe P. D. (1983): Plasma corticosterone in wild starlings (Sturnus vulgaris) immediately following capture and in relation to body weight during the annual cycle. *Gen Comp Endocrinol,* 51 (2) 303-8. p.

Dawson A., Sharp P. J. (1998): The role of prolactin in the development of reproductive photorefractoriness and postnuptial molt in the European starling (Sturnus vulgaris). *Endocrinology,* 139 (2) 485-90. p.

Dawson A., Sharp P. J. (2007): Photorefractoriness in birds--photoperiodic and non-photoperiodic control. *Gen Comp Endocrinol,* 153 (1-3) 378-84. p.

Dawson A., Sharp P. J. (2010): Seasonal changes in concentrations of plasma LH and prolactin associated with the advance in the development of photorefractoriness and molt by high temperature in the starling. *Gen Comp Endocrinol,* 167 (1) 122-7. p.

Dawson A. et al. (2002): Changes in basal hypothalamic chicken gonadotropin-releasing hormone-I and vasoactive intestinal polypeptide associated with a photo-induced cycle in gonadal maturation and prolactin secretion in intact and thyroidectomized starlings (Sturnus vulgaris). *J Neuroendocrinol,* 14 (7) 533-9. p.

Deviche P. et al. (2006): Testosterone induces testicular development but reduces GnRH-I fiber density in the brain of the House Finch, Carpodacus mexicanus. *Gen Comp Endocrinol,* 147 (2) 167-74. p.

Deviche P., Sabo J., Sharp P. J. (2008): Glutamatergic stimulation of luteinising hormone secretion in relatively refractory male songbirds. *J Neuroendocrinol,* 20 (10) 1191-202. p.

Deviche P., Sharp P. J. (2001): Reproductive endocrinology of a free-living, opportunistically breeding passerine (white-winged crossbill, Loxia leucoptera). *Gen Comp Endocrinol,* 123 (3) 268-79. p.

Doneley B., Doneley R. (2010): Avian Medicine and Surgery in Practice: Companion and Aviary Birds. London, UK: Manson Publishing Ltd., 336. p.

Duffy D. L. et al. (2000): Effects of testosterone on cell-mediated and humoral immunity in non-breeding adult European starlings. *Behav. Ecol.,* 11 654-662. p.

Dusseau J. W., Meier A. H. (1971): Diurnal and seasonal variations of plasma adrenal steroid hormone in the white-throated sparrow, Zonotrichia albicollis. *Gen Comp Endocrinol,* 16 (3) 399-408. p.

Eens M. (1997): Understanding the complex song of the European starling: an integrated ethological approach. *Adv. Study. Behav.,* 26 355-434. p.

Eens M., Pinxten R., Verheyen R. F. (1990): On the function of singing and wing-waving in the European Starling Sturnus vulgaris. *Bird Study,* 37 (1) 48-52. p.

Evans M. R., Goldsmith A. R., Norris S. R. A. (2000): The effects of testosterone on antibody production and plumage coloration in male house sparrows (Passer domesticus). *Behav. Ecol. Socbiol.,* 47 156-163. p.

Európai Meteorológiai Szolgálat. A nappalok hossza. *http://old.eumet.hu/nappal.html*,

Falk H., Gwinner E. (1988): Timing of photorefractoriness in the European starling: significance of photoperiod early and late in the reproductive cycle. *Biol Reprod,* 39 (5) 1004-8. p.

Falsone K., Jenni-Eiermann S., Jenni L. (2009): Corticosterone in migrating songbirds during endurance flight. *Horm Behav,* 56 (5) 548-56. p.

Farner D. S. (1980): Endogenous periodic function in the control of reproductive cycles. 123-138. p. In: Tanabe Y., Tanaka K., Ookawa T. (Szerk.): *Biological rhythms in birds.* Berlin, Germany, Jap. Sci. Soc. Press, Springer.

Feare C. (1984): The starling. New York, USA: Oxford University Press. 24. p.

Fehér T., Szalay K. S., Szilágyi G. (1985): Effect of ACTH and prolactin on dehydroepiandrosterone, its sulfate ester and cortisol production by normal and tumorous human adrenocortical cells. *J Steroid Biochem,* 23 (2) 153-7. p.

Fernald R. D., White R. B. (1999): Gonadotropin-releasing hormone genes: phylogeny, structure, and functions. *Front Neuroendocrinol,* 20 (3) 224-40. p.

Foidart A. et al. (1998): Neuroanatomical distribution and variations across the reproductive cycle of aromatase activity and aromatase-immunoreactive cells in the pied flycatcher (Ficedula hypoleuca). *Horm Behav,* 33 (3) 180-96. p.

Foster R. G. et al. (1987): Immunohistochemical demonstration of marked changes in the LHRH system of photosensitive and photorefractory European starlings (Sturnus vulgaris). *J Endocrinol,* 115 (2) 211-20. p.

Freed L. A. (1981): Loss of Mass in Breeding Wrens: Stress or Adaptation? *Ecology,* 62 1179-1186. p.

Freking F., Nazairians T., Schlinger B. A. (2000): The expression of the sex steroid-synthesizing enzymes CYP11A1, 3beta-HSD, CYP17, and CYP19 in gonads and adrenals of adult and developing zebra finches. *Gen Comp Endocrinol,* 119 (2) 140-51. p.

Friedmann H. (1927): Testicular asymmetry and sex ratio in birds. *Biological Bulletin of Woods Hole,* 52 197-207. p.

Fromme-Bouman H. (1962): Jahresperiodische Untersuchungen an der Nebennierenrinde der Amsel (*Turdus merula* L.). *Vogelwarte,* 21 188-198. p.

Fusani L., Hutchison J. B., Gahr M. (2001): Testosterone regulates the activity and expression of aromatase in the canary neostriatum. *J Neurobiol,* 49 (1) 1-8. p.

Gahr M. (2001): Distribution of sex steroid hormone receptors in the avian brain: functional implications for neural sex differences and sexual behaviors. *Microsc Res Tech,* 55 (1) 1-11. p.

Gahr M., Hutchison J. B. (1992): Behavioral action of estrogen in the male dove brain: area differences in codistribution of aromatase activity and estrogen receptors are steroid-dependent. *Neuroendocrinology,* 56 (1) 74-84. p.

Gentner T. Q., Hulse S. H. (2000): Female European Starling Preference and Choice for Variation in Conspecific Male Song. *Anim Behav,* 59 443- 458. p.

Gergely J., Tót L., Frank Z. (2000): Ptice Potisja od Kanjize do Novog Beceja. *Ciconia,* 9 121-159. p.

Gerson A. R., Guglielmo C. G. (2011): Flight at low ambient humidity increases protein catabolism in migratory birds. *Science,* 333 (6048) 1434-6. p.

Goldsmith A. R. et al. (1989): Photoperiodic control of the development of the LHRH neurosecretory system of European starlings (Sturnus vulgaris) during puberty and the onset of photorefractoriness. *J Endocrinol,* 122 (1) 255-68. p.

Goldsmith A. R., Nicholls T. J. (1984): Thyroxine induces photorefractoriness and stimulates prolactin secretion in European starlings (Sturnus vulgaris). *J Endocrinol,* 101 (1) R1-3. p.

Gore A. C. (2002): Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons: gene expression and neuroanatomical studies. *Prog Brain Res,* 141 193-208. p.

Goutte A. et al. (2010): Stress and the timing of breeding: glucocorticoid-luteinizing hormones relationships in an arctic seabird. *Gen Comp Endocrinol,* 169 (1) 108-16. p.

Gray D. A., Gerstberger R., Simon E. (1989): Role of angiotensin II in aldosterone regulation in the Pekin duck. *J Endocrinol,* 123 (3) 445-52. p.

Guha B. et al. (1990): Morphology of the avian adrenal gland examined by scanning electron microscopy. *Z. mikrosk.-anat. Forsch., Leipzig,* 104 (3) 395-400. p.

Guzsal E. (1981): Háziállatok szövettana. Budapest, Mezőgazdasági Kiadó, 459. p.

Gwinner H., Van't Hof T., Zeman M. (2002): Hormonal and behavioral responses of starlings during a confrontation with males or females at nest boxes during the reproductive season. *Horm Behav,* 42 (1) 21-31. p.

Hahn T. P. (1995): Integration of photoperiodic and food cues to time changes in reproductive physiology by an opportunistic breeder, the red crossbill, Loxia curvirostra (Aves: Carduelinae). *Journal of Experimental Zoology,* 272 (3) 213-226. p.

Hahn T. P., Ball G. F. (1995): Changes in brain GnRH associated with photorefractoriness in house sparrows (Passer domesticus). *Gen Comp Endocrinol,* 99 (3) 349-63. p.

Hahn T. P. et al. (2005): Effects of food availability on the reproductive system. Narosa Publishing House, 167-180 p.

Hall B. K. (1968): The annual interrenal tissue cycle within the adrenal galnd of the Eastern Rosella, Platycercus eximius (Aves : Psittaciformes). *Australian Journal of Zoology,* 16 (4) 609 - 617. p.

Harding C. F., Sheridan K., Walters M. J. (1983): Hormonal specificity and activation of sexual behavior in male zebra finches. *Horm Behav,* 17 (1) 111-33. p.

Harikrishnan S., Vasudevan K., Sivakumar K. (2010): Behavior of Indian Peafowl Pavo cristatus Linn. 1758 During the Mating Period in a Natural Population. *The Open Ornithology Journal,* 3 13-19. p.

Hartman F. A., Albertin R. H. (1951): A preliminary study of the avian adrenal. *Auk,* 68 202-209. p.

Hartman F. A., Brownell K. A. (1949): The adrenal gland. Philadelphia, USA: Lea and Febiger. 258. p.

Hau M. (2001): Timing of breeding in variable environments: tropical birds as model systems. *Horm Behav,* 40 (2) 281-90. p.

Hau M., Stoddard S. T., Soma K. K. (2004a): Territorial aggression and hormones during the non-breeding season in a tropical bird. *Horm Behav,* 45 (1) 40-9. p.

Hau M. et al. (2004b): Timing of reproduction in a Darwin's finch: temporal opportunism under spatial constraints. *OIKOS,* 106 489-500. p.

Hau M. et al. (2000): Testosterone and year-round territorial aggression in a tropical bird. *Gen Comp Endocrinol,* 117 (1) 20-33. p.

Hausberger M. et al. (1995): Song Sharing Reflects the Social Organization in a Captive Group of European Starlings (Sturnus vulgaris). *J. Comp. Psychol.,* 109 (3) 222-241. p.

Henry L., Hausberger M. (2001): Differences in the social context of song production in captive male and female European starlings. *C R Acad Sci III,* 324 (12) 1167-74. p.

Herman O. (1901): A madarak hasznáról és káráról. Budapest, Magyarország, M. KIR. FÖLDMIVELÉSÜGYI MINISTER KIADVÁNYAI, 72. p.

Hicks D. L. (1967): Adipose tissue composition and cell size in fall migratory thrushes (Turdidae). *The Condor,* 69 387-399. p.

Hofmann H. A. (2006): Gonadotropin-releasing hormone signaling in behavioral plasticity. *Curr Opin Neurobiol,* 16 (3) 343-50. p.

Holberton R. L. (1999): Changes in patterns of corticosterone secretion concurrent with migratory fattening in a neotropical migratory bird. *Gen Comp Endocrinol,* 116 (1) 49-58. p.

Holberton R. L., Boswell T., Hunter M. J. (2008): Circulating prolactin and corticosterone concentrations during the development of migratory condition in the Dark-eyed Junco, Junco hyemalis. *Gen Comp Endocrinol,* 155 (3) 641-9. p.

Holberton R. L. et al. (2007): The role of corticosterone in supporting migratory lipogenesis in the dark-eyed Junco, Junco hyemalis: a model for central and peripheral regulation. *Physiol Biochem Zool,* 80 (1) 125-37. p.

Holmberg A. D., Solar F. L. (1942): Some notes on the adrenals. *Contrib. Lab. Anatomy, Comp. Physiol. and Pharmacodynamics, Univ. Buenos Aires,* 20 457-469; 667-675. p.

Holmes W. N., Cronshaw J. (1984): Adrenal gland: some evidence for the structural and functional zonation of the steroidogenic tissues. *J Exp Zool,* 232 (3) 627-31. p.

Höhn E. O., A. S., Dzubin A. (1965): Adrenal weight in wild mallard and domestic ducks and seasonal adrenal weight changes in the mallard. *Canadian. J. Zoology,* 43 475-487. p.

Hull E. M., Rodriguez-Manzo G. (2009): Male sexual behavior. Academic Press, 5-65 p.

Hurley L. L. et al. (2008): Photoperiodic induced changes in reproductive state of border canaries (Serinus canaria) are associated with marked variation in hypothalamic gonadotropin-releasing hormone immunoreactivity and the volume of song control regions. *Gen Comp Endocrinol,* 158 (1) 10-9. p.

Hyatt P. J., Bhatt K., Tait J. F. (1983): Steroid biosynthesis by zona fasciculata and zona reticularis cells purified from the mammalian adrenal cortex. *J Steroid Biochem,* 19 (1C) 953-9. p.

Ibrahim M. M. (2010): Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev,* 11 (1) 11-8. p.

Islam M. N. et al. (2010): Histological and morphometric analyses of seasonal testicular variations in the Jungle Crow (Corvus macrorhynchos). *Anat Sci Int,* 85 (3) 121-9. p.

Jallageas M. (1975): Interactions reciproques testo-thyroidiennes chez le Canard male. Indcidenés sur les cycles endocriniens annuels. Thése, Université de Montepelier, France.

Joseph N. T. et al. (2009): The chicken type III GnRH receptor homologue is predominantly expressed in the pituitary, and exhibits similar ligand selectivity to the type I receptor. *J Endocrinol,* 202 (1) 179-90. p.

Kaiser A. (1993): New multi-category classification of subcutaneous fat deposits of songbirds *J. Field Ornithol.,* 64 (2) 246-255. p.

Kelemen A. (1978): Madaraskönyv. Bukarest, Románia: Kriterion. 311.p.

Kempenaers B. et al. (2002): Testes size and asymmetry in the tree swallow Tachycineata bicolor: a test of the compensation hypothesis. *Avian Science,* 2 (3) 115-122. p.

Kern M. D. (1979): Seasonal changes in the reproductive system of the female white-crowned sparrow, Zonotrichia leucophrys gambelii, in captivity and in the field. 2. The incubation patch. *Cell Tissue Res,* 202 (3) 379-98. p.

Kessel B. (1951): Criteria for sexing and aging European starlings (Sturnus vulgaris). *Bird-Banding,* 22 (1) 16-23. p.

Kessel B. (1957): A study of the breeding biology of the European starling (Sturnus vulgaris L.) in North America. *The American Midland Naturalist,* 58 257-331. p.

Ketterson E. D. et al. (1991): Testosterone and avian life histories: the effect of experimentally elevated testosterone on corticosterone and body mass in dark-eyed juncos. *Horm Behav,* 25 (4) 489-503. p.

Kim H. S. et al. (2006): Serotonin stimulates GnRH secretion through the c-Src-PLC gamma1 pathway in GT1-7 hypothalamic cells. *J Endocrinol,* 190 (3) 581-91. p.

Kimball R. T., Ligon J. D., Merola-Zwartes M. (1997): Testicular asymmetry and secondary sexual characters in red jungle-fowl. *Auk,* 114 221-228. p.

King J. A., Millar R. P. (1982): Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone. I. Structural determination on partially purified material. *J Biol Chem,* 257 (18) 10722-8. p.

Klingbeil C. K. et al. (1979): Functional significance of interrenal cell zonation in the adrenal gland of the duck (Anas platyrhynchos). *Cell Tissue Res,* 201 (1) 23-36. p.

Klukowski L. A. et al. (1997): Effects of experimentally elevated testosterone on plasma corticosterone and corticosteroid-binding globulin in dark-eyed juncos (Junco hyemalis). *Gen Comp Endocrinol,* 108 (1) 141-51. p.

Knouff R. A., Hartman F. A. (1951): A microscopic study of the adrenal of the brown pelican. *Anat Rec,* 109 (2) 161-88. p.

Kondics L. (1963): Über die Wirkung der Dehydration auf die funktionelle Zonation der Nebenniere bei Haustauben. *Ann. Univ. Sci. Rolando Eötvös Nom. Sect. Biol.,* 6 101-107. p.

Kondics L., Kjaerheim A. (1966): The zonation of interrenal cells in fowls (an electron microscopical study). *Z. Zellforsch,* 70 (1) 81-90. p.

Kordonowy L. L., McMurtry J. P., Williams T. D. (2010): Variation in plasma leptin-like immunoreactivity in free-living European starlings (Sturnus vulgaris). *Gen Comp Endocrinol,* 166 (1) 47-53. p.

Kumar A., Kumar B., Arora M. P. (2008): Effect of photoperiod on the adrenal activities of male rose ringed parakeet, Psittacala krameri. *J Environ Biol,* 29 (3) 339-42. p.

Lambrechts M. M. et al. (1999): Do experiments with captive non-domesticated animals make sense without population field studies? A case study with blue tits' breeding time. *Proc. R. Soc. Lond. B,* 266 (1426) 1311-1315. p.

Landys M. M. et al. (2010): Impact of season and social challenge on testosterone and corticosterone levels in a year-round territorial bird. *Horm Behav,* 58 (2) 317-25. p.

Lincoln G. A., Short R. V. (1980): Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Prog Horm Res,* 36 1-52. p.

Lindsay W. R., Webster M. S., Schwabl H. (2011): Sexually Selected Male Plumage Color Is Testosterone Dependent in a Tropical Passerine Bird, the Red-Backed Fairy-Wren (Malurus melanocephalus). *PLoS One,* 6 (10) e26067. p.

Liu D., Dillon J. S. (2002): Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to Galpha(i2,3). *J Biol Chem,* 277 (24) 21379-88. p.

Logan C. A., Wingfield J. C. (1990): Autumnal territorial aggression is independent of plasma testosterone in mockingbirds. *Horm Behav,* 24 (4) 568-81. p.

Lorenzen L. C., Farner D. S. (1964): An Annual Cycle in the Interrenal Tissue of the Adrenal Gland of the White-Crowned Sparrow, Zonotrichia Leucophrys Gambelii. *Gen Comp Endocrinol,* 69 253-63. p.

Lowther P. E., Groschupf K. D., Russell S. M. (1999): Rufous-winged Sparrow (Aimophila carpalis). 422. p. In: Poole A., Gill F.: *The Birds of North America.* Philadelphia, USA.

Lund-Larsena T. R., Kofstada J., Aakvaaga A. (1978): Seasonal changes in serum levels of aldosterone, cortisol and inorganic ions in the reindeer (Rangifer tarandus) *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology,* 60 (4) 383-386. p.

Lynn S. E. et al. (2010): Food, stress, and reproduction: short-term fasting alters endocrine physiology and reproductive behavior in the zebra finch. *Horm Behav,* 58 (2) 214-22. p.

MacLusky N. J., Naftolin F. (1981): Sexual differentiation of the central nervous system. *Science,* 211 (4488) 1294-302. p.

Majsa Z., Mihály K., Péczely P. (1976): Circadian rhythm of hypothalamo-hypophyseal-adrenal activity in the chicken. *Acta Physiol Acad Sci Hung,* 47 (2-3) 101-9. p.

Malecki I. A. et al. (1998): Endocrine and testicular changes in a short-day seasonally breeding bird, the emu (Dromaius novaehollandiae), in southwestern Australia. *Anim Reprod Sci,* 53 (1-4) 143-55. p.

Maney D. L. et al. (2008): Estradiol modulates neural responses to song in a seasonal songbird. *J Comp Neurol,* 511 (2) 173-86. p.

Maney D. L., Richardson R. D., Wingfield J. C. (1997): Central administration of chicken gonadotropin-releasing hormone-II enhances courtship behavior in a female sparrow. *Horm Behav,* 32 (1) 11-8. p.

Matsunaga M., Ukena K., Tsutsui K. (2002): Androgen biosynthesis in the quail brain. *Brain Res,* 948 (1-2) 180-5. p.

McFarlane H. O. et al. (2011): Development, validation, and utilization of a novel antibody specific to the type III chicken gonadotropin-releasing hormone receptor. *Domest Anim Endocrinol,* 40 (2) 110-8. p.

McKinney F. (1992): Courtship, pair formation and signal systems. University of Minnesota Press, 387-422 p.

McLandress M. R., Raveling D. G. (1981): Changes in diet and body composition of Canada geese before spring migration. *Auk,* 98 65-79. p.

Meddle S. L. et al. (2006): Hypothalamic pro-GnRH-GAP, GnRH-I and GnRH-II during the onset of photorefractoriness in the white-crowned sparrow (Zonotrichia leucophrys gambelii). *J Neuroendocrinol,* 18 (3) 217-26. p.

Meijer T., Mohring F. J., Trillmich F. (1994): Annual and daily variation in body mass and fat of Starlings Sturnus vulgaris *Journal of Avian Biology,* 25 98-104. p.

Meijer T. et al. (1999): Temperature and timing of egg-laying of European Starlings. *Condor,* 101 (1) 124 - 132. p.

Migues P. V., Johnston A. N., Rose S. P. (2002): Dehydroepiandosterone and its sulphate enhance memory retention in day-old chicks. *Neuroscience,* 109 (2) 243-51. p.

Mikami S., Takagi T., Farner D. S. (1980): Cytological differentiation of the interrenal tissue of the Japanese quail, Coturnix coturnix. *Cell Tissue Res,* 208 (3) 353-70. p.

Millam J. R. et al. (1993): Immunohistochemical localization of chicken gonadotropin-releasing hormones I and II (cGnRH I and II) in turkey hen brain. *J Comp Neurol,* 333 (1) 68-82. p.

Millam J. R. et al. (1998): Multiple forms of GnRH are released from perifused medial basal hypothalamic/preoptic area (MBH/POA) explants in birds. *Gen Comp Endocrinol,* 111 (1) 95-101. p.

Miller R. A., Riddle O. (1942): The cytology of the adrenal cortex of normal pigeons and in experimentally induced atrophy and hypertrophy. *Amer. Journ. Anat.,* 71 311-341. p.

Miyamoto K. et al. (1984): Identification of the second gonadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 81 (12) 3874-8. p.

MME-Birdlife-Hungary. Seregély. *http://www.mme-monitoring.hu/birds.php?huring=STUVUL*,

Moens L., Coessens R. (1970): Seasonal variations in the adrenal cortex cells of the house sparrow, Passer domesticus (L.), with special reference to a possible zonation. *Gen Comp Endocrinol,* 15 (1) 95-100. p.

Møller A. P. (1991): Sperm competition, sperm depletion, paternal care, and relative testis size in birds. *The American Naturalist* 137 (6) 882-906. p.

Møller A. P. (1994): Directional selection on directional asymmetry: testes size and secondary sexual characters in birds. *Proc. R. Soc. Lond.*, 258 (1352) 147-151. p.

Molnár G. (1998): A seregély. 359-360. p. In: Haraszthy L. (Szerk.): *Magyarország madarai.* Budapest, Mezőgazdasági Kiadó. 441. p.

Nakamura T., Tanabe Y., Hirano H. (1978): Evidence of the in vitro formation of cortisol by the adrenal gland of embryonic and young chickens (Gallus domesticus). *Gen Comp Endocrinol,* 35 (3) 302-8. p.

Newman A. E., Pradhan D. S., Soma K. K. (2008): Dehydroepiandrosterone and corticosterone are regulated by season and acute stress in a wild songbird: jugular versus brachial plasma. *Endocrinology,* 149 (5) 2537-45. p.

Nottebohm F. (1981): A brain for all seasons: cyclical anatomical changes in song control nuclei of the canary brain. *Science,* 214 (4527) 1368-70. p.

Orr T. E., Mann D. R. (1992): Role of glucocorticoids in the stress-induced suppression of testicular steroidogenesis in adult male rats. *Horm Behav,* 26 (3) 350-63. p.

Országos Meteorológiai Szolgálat a. Magyarország csapadékviszonyai. *http://www.met.hu/eghajlat/magyarorszag_eghajlata/altalanos_eghajlati_jellemzes/csapadek/*,

Országos Meteorológiai Szolgálat b. Magyarország hőmérsékleti viszonyai.. *http://www.met.hu/eghajlat/magyarorszag_eghajlata/altalanos_eghajlati_jellemzes/homerseklet/*

Owen-Ashley N. T., Hasselquist D., Wingfield J. C. (2004): Androgens and the immunocompetence handicap hypothesis: unraveling direct and indirect pathways of immunosuppression in song sparrows. *Am Nat,* 164 (4) 490-505. p.

Panzica G. C., Viglietti-Panzica C., Balthazart J. (1996): The sexually dimorphic medial preoptic nucleus of quail: a key brain area mediating steroid action on male sexual behavior. *Front Neuroendocrinol,* 17 (1) 51-125. p.

Parry D. M. et al. (1997): Immunocytochemical localization of GnRH precursor in the hypothalamus of European starlings during sexual maturation and photorefractoriness. *J Neuroendocrinol,* 9 (3) 235-43. p.

Pearce R. B., Cronshaw J., Holmes W. N. (1978): Evidence for the zonation of interrenal tissue in the adrenal gland of the duck (Anas platyrhynchos). *Cell Tissue Res,* 192 (3) 363-79. p.

Péczely P. (1964): The Adaptation to Saltwater Conditions of the Adrenal Structure in Various Bird Species. *Acta Biol Acad Sci Hung,* 15 171-9. p.

Péczely P. (1976): [Circumannual study of adrenal cortex function in species of migratory and non-migratory sparrows]. *Gen Comp Endocrinol,* 30 (1) 1-11. p.

Péczely P. (1982): A mellékvesekéreg, a gonád és a pajzsmirigy működés kapcsolata madarakon. Doktori értekezés.

Péczely P. (1985): The role of thyroid and adrenal cortical hormones in the modulation of the gonadal function in birds. *Acta Biol Hung,* 36 (1) 45-70. p.

Péczely P. (1987): A madarak szaporodásbiológiája. Mezőgazdasági Kiadó, 237. p.

Péczely P. (2002): A madarak osztálya (Classis Aves). 113-188. p. In: Zboray G. (Szerk.): *Összehasonlító anatómiai praktikum II.* Budapest: Nemzeti Tankönyvkiadó, 444. p.

Péczely P. et al. (2011): Role of gonadal and adrenal steroids and thyroid hormones in the regulation of molting in domestic goose. *Acta Biol Hung,* 62 (1) 1-21. p.

Péczely P., Daniel J. Y. (1979): [Reciprocal interactions in the testis-thyroid-adrenal axis of the Japanese male quail]. *Gen Comp Endocrinol,* 39 (2) 164-73. p.

Péczely P., Pethes G. (1981): Effect of ovariectomy, thyroidectomy and of thyroxine treatment on the plasma level of corticosterone of the female Japanese quail. *Acta Biol Acad Sci Hung,* 32 (1) 1-6. p.

Penfold L. M. et al. (2000): Seasonal patterns of LH, testosterone and semen quality in the Northern pintail duck (Anas acuta). *Reprod Fertil Dev,* 12 (3-4) 229-35. p.

Perfito N., Bentley G., Hau M. (2006): Tonic activation of brain GnRH immunoreactivity despite reduction of peripheral reproductive parameters in opportunistically breeding zebra finches. *Brain Behav Evol,* 67 (3) 123-34. p.

Phillmore L. S. et al. (2005): A test of absolute photorefractoriness and photo-induced neural plasticity of song-control regions in black-capped chickadees (Poecile atricapillus). *Canadian Journal of Zoology,* 83 (5) 747-753. p.

Pinxten R. et al. (2002): Context-dependent effects of castration and testosterone treatment on song in male European starlings. *Horm Behav,* 42 (3) 307-18. p.

Pinxten R., de Ridder E., Eens M. (2003): Female presence affects male behavior and testosterone levels in the European starling (Sturnus vulgaris). *Horm Behav,* 44 (2) 103-9. p.

Poisbleau M., Lacroix A., Chastel O. (2009): DHEA levels and social dominance relationships in wintering brent geese (Branta bernicla bernicla). *Behav Processes,* 80 (1) 99-103. p.

Proudman J. A. et al. (2006): Comparison of the ability of the three endogenous GnRHs to stimulate release of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in chickens. *Domest Anim Endocrinol,* 31 (2) 141-53. p.

Rainey W. E., Nakamura Y. (2008): Regulation of the adrenal androgen biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol,* 108 (3-5) 281-6. p.

Richardson W. J., Haight M. E. (1970): Migration departures from starling roosts. *Canadian Journal of Zoology,* 48 (1) 31-39. p.

Riddle O. (1923): Studies on the physiology of reproduction in birds: XIV. Suprarenal Hypertrophy Coincident with Ovulation. *Am. J. Physiol.,* 66 (2) 322-339. p.

Riters L. V. et al. (2001): Seasonal variation in androgen-metabolizing enzymes in the diencephalon and telencephalon of the male European starling (Sturnus vulgaris). *J Neuroendocrinol,* 13 (11) 985-97. p.

Riters L. V. et al. (2002): Seasonal changes in the densities of alpha(2) noradrenergic receptors are inversely related to changes in testosterone and the volumes of song control nuclei in male European starlings. *J Comp Neurol,* 444 (1) 63-74. p.

Riters L. V. et al. (2000): Seasonal changes in courtship song and the medial preoptic area in male European starlings (Sturnus vulgaris). *Horm Behav,* 38 (4) 250-61. p.

Roberts M. L. et al. (2007): Effects of testosterone and corticosterone on immunocompetence in the zebra finch. *Horm Behav,* 51 (1) 126-34. p.

Robinson J. E., Follett B. K. (1982): Photoperiodism in Japanese quail: the termination of seasonal breeding by photorefractoriness. *Proc R Soc Lond B Biol Sci,* 215 (1198) 95-116. p.

Rogers C. M. (1991): An evaluation of the method of estimating body fat in birds by quantifying visible subcutaneous fat. *J. Field Ornithol.,* 62 (3) 349-356. p.

Romero L. M. (2002): Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. *Gen Comp Endocrinol,* 128 (1) 1-24. p.

Romero L. M., Soma K. K., Wingfield J. C. (1998): Hypothalamic-pituitary-adrenal axis changes allow seasonal modulation of corticosterone in a bird. *Am J Physiol,* 274 (5 Pt 2) R1338-44. p.

Romero L. M., Wingfield J. C. (1998): Seasonal changes in adrenal sensitivity alter corticosterone levels in Gambel's white-crowned sparrows (Zonotrichia leucophrys gambelii). *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol,* 119 (1) 31-6. p.

Sacco M. et al. (2002): DHEA, a selective glucocorticoid receptor antagonist: its role in immune system regulation and metabolism. *J Endocrinol Invest,* 25 (10 Suppl) 81-2. p.

Saint Jalme M. et al. (1996): Seasonal variation of LH, sex steroids, body mass, molt, display, and laying in two subspecies of Houbara bustard, Chlamydotis undulata macqueenii and Chlamydotis undulata undulata, housed in outdoor cages under natural conditions. *Gen Comp Endocrinol,* 102 (1) 102-12. p.

Saldanha C. J., Silverman A. J., Silver R. (2001): Direct innervation of GnRH neurons by encephalic photoreceptors in birds. *J Biol Rhythms,* 16 (1) 39-49. p.

Sanz J. J. (1998): Effects of geographic location and habitat on breeding parameters of Great Tits. *Auk,* 115 (4) 1034-1051. p.

Sapolsky R. M. (1985): Stress-induced suppression of testicular function in the wild baboon: role of glucocorticoids. *Endocrinology,* 116 (6) 2273-8. p.

Sapolsky R. M., Romero L. M., Munck A. U. (2000): How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* 21 (1) 55-89. p.

Schlinger B. A., Callard G. V. (1989): Estrogen receptors in quail brain: a functional relationship to aromatase and aggressiveness. *Biol Reprod,* 40 (2) 268-75. p.

Schmidt K. L. et al. (2009): Cortisol and corticosterone in immune organs and brain of European starlings: developmental changes, effects of restraint stress, comparison with zebra finches. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,* 297 (1) R42-51. p.

Schoech S. J., Ketterson E. D., Nolan V. (1999): Exogenous testosterone and the adrenocortical response in dark-eyed juncos. *The Auk* 116 (1) 64-72. p.

Scholes E. (2006): Courtship ethology of Carola's parotia (Parotia carolae) *Auk,* 123 967-990. p.

Schumacher M., Balthazart J. (1986): Testosterone-induced brain aromatase is sexually dimorphic. *Brain Res,* 370 (2) 285-93. p.

Schwabl H., Kriner E. (1991): Territorial aggression and song of male European robins (Erithacus rubecula) in autumn and spring: effects of antiandrogen treatment. *Horm Behav,* 25 (2) 180-94. p.

Schwabl H., Wingfield J. C., Farner D. S. (1985): Influence of Winter on Endocrine State and Behavior in European Blackbirds (Turdus merula). *Zeitschrift für Tierpsychologie*
68 (3) 244-252. p.

Sharp P. J. et al. (1990): Physiological roles of chicken LHRH-I and -II in the control of gonadotrophin release in the domestic chicken. *J Endocrinol,* 124 (2) 291-9. p.

Shimizu M., Bedecarrats G. Y. (2006): Identification of a novel pituitary-specific chicken gonadotropin-releasing hormone receptor and its splice variants. *Biol Reprod,* 75 (5) 800-8. p.

Silverin B. (1979): Activity of the adrenal glands in the pied flycatcher and its relation to testicular regression. *Gen Comp Endocrinol,* 38 (2) 162-71. p.

Silverin B. (1986): Corticosterone-binding proteins and behavioral effects of high plasma levels of corticosterone during the breeding period in the pied flycatcher. *Gen Comp Endocrinol,* 64 (1) 67-74. p.

Silverin B., Viebke P. A., Westin J. (1989): Hormonal correlates of migration and territorial behavior in juvenile willow tits during autumn. *Gen Comp Endocrinol,* 75 (1) 148-56. p.

Silverin B. et al. (2008): Ambient temperature effects on photo induced gonadal cycles and hormonal secretion patterns in Great Tits from three different breeding latitudes. *Horm Behav,* 54 (1) 60-8. p.

Skeate S. T. (1984): Courtship and Reproductive Behaviour of Captive White-Fronted Amazon Parrots Amazona albifrons. *Bird Behavior,* 5 (2-3) 103-109. p.

Sohail M. U. et al. (2011): Alleviation of cyclic heat stress in broilers by dietary supplementation of mannan-oligosaccharide and Lactobacillus-based probiotic: dynamics of cortisol, thyroid hormones, cholesterol, C-reactive protein, and humoral immunity. *Poult Sci,* 89 (9) 1934-8. p.

Soma K. K. et al. (2008): Novel mechanisms for neuroendocrine regulation of aggression. *Front Neuroendocrinol,* 29 (4) 476-89. p.

Soma K. K., Wingfield J. C. (2001): Dehydroepiandrosterone in songbird plasma: seasonal regulation and relationship to territorial aggression. *Gen Comp Endocrinol,* 123 (2) 144-55. p.

Soma K. K. et al. (2002): Dehydroepiandrosterone (DHEA) increases territorial song and the size of an associated brain region in a male songbird. *Horm Behav,* 41 (2) 203-12. p.

Spinney L. H., Bentley G. E., Hau M. (2006): Endocrine correlates of alternative phenotypes in the white-throated sparrow (Zonotrichia albicollis). *Horm Behav,* 50 (5) 762-71. p.

Springer M. L., Wade J. (1997): The effects of testicular tissue and prehatching inhibition of estrogen synthesis on the development of courtship and copulatory behavior in zebra finches. *Horm Behav,* 32 (1) 46-59. p.

Stevenson T. J., Ball G. F. (2009): Anatomical localization of the effects of reproductive state, castration, and social milieu on cells immunoreactive for gonadotropin-releasing hormone-I in male European starlings (Sturnus vulgaris). *J Comp Neurol,* 517 (2) 146-155. p.

Stevenson T. J., Bernard D. J., Ball G. F. (2009a): Photoperiodic condition is associated with region-specific expression of GNRH1 mRNA in the preoptic area of the male starling (Sturnus vulgaris). *Biol Reprod,* 81 (4) 674-80. p.

Stevenson T. J., Hahn T. P., Ball G. F. (2011): Variation in Gonadotropin Releasing-Hormone-1 Gene Expression in the Preoptic Area Predicts Transitions in Seasonal Reproductive State. *J Neuroendocrinol,* 24 (2) 267-74. p.

Stevenson T. J. et al. (2009b): Cloning of gonadotropin-releasing hormone I complementary DNAs in songbirds facilitates dissection of mechanisms mediating seasonal changes in reproduction. *Endocrinology,* 150 (4) 1826-33. p.

Stevenson T. J., Macdougall-Shackleton S. A. (2005): Season- and age-related variation in neural cGnRH-I and cGnRH-II immunoreactivity in house sparrows (Passer domesticus). *Gen Comp Endocrinol,* 143 (1) 33-9. p.

Stokes A. W., Warrington Williams H. (1971): Courtship feeding in Gallinaceus birds. *Auk,* 88 (3) 543-559. p.

Sudhakumari C. C., Haldar C., Senthilkumaran B. (2001): Seasonal changes in adrenal and gonadal activity in the quail, Perdicula asiatica: involvement of the pineal gland. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol,* 128 (4) 793-804. p.

Sun Y. M. et al. (2001): Distribution and regulation by oestrogen of fully processed and variant transcripts of gonadotropin releasing hormone I and gonadotropin releasing hormone receptor mRNAs in the male chicken. *J Neuroendocrinol,* 13 (1) 37-49. p.

Tae H. J. et al. (2005): Morphometric studies on the testis of Korean ring-necked pheasant (Phasianus colchicus karpowi) during the breeding and non-breeding seasons. *Vet Res Commun,* 29 (7) 629-43. p.

Tanabe Y. et al. (1979): Production and secretion of sex steroid hormones by the testes, the ovary, and the adrenal glands of embryonic and young chickens (Gallus domesticus). *Gen Comp Endocrinol,* 39 (1) 26-33. p.

Tanabe Y., Yano T., Nakamura T. (1983): Steroid hormone synthesis and secretion by testes, ovary, and adrenals of embryonic and postembryonic ducks. *Gen Comp Endocrinol,* 49 (1) 144-53. p.

Tang L. et al. (2009): The morphological study on the adrenal gland of African ostrich chicks. *Tissue Cell,* 41 (4) 231-8. p.

Temple S. A. (1974): Plasma testosterone titers during the annual reproductive cycle of starlings (Sturnus vulgaris). *Gen Comp Endocrinol,* 22 (4) 470-9. p.

Thorpe W. H. (1954): The process of song learning in the chaffinch as studied by means of the sound spectrograph. *Nature,* 173 465-469. p.

Tonra C. M., Marra P. P., Holberton R. L. (2011): Early elevation of testosterone advances migratory preparation in a songbird. *J Exp Biol,* 214 (Pt 16) 2761-7. p.

Tsutsui K., Matsunaga M., Ukena K. (2003): Biosynthesis and biological actions of neurosteroids in the avian brain. *Avian Poult. Biol. Rev.,* 14 63-78. p.

Tsutsui K. et al. (2000): A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release. *Biochem Biophys Res Commun,* 275 (2) 661-7. p.

Ubuka T. et al. (2008a): Gonadotropin-inhibitory hormone neurons interact directly with gonadotropin-releasing hormone-I and -II neurons in European starling brain. *Endocrinology,* 149 (1) 268-78. p.

Ubuka T. et al. (2008b): The control of reproductive physiology and behavior by gonadotropin-inhibitory hormone. *Integr Comp Biol,* 48 (5) 560-9. p.

Urbanski H. F., Fahy M. M., Collins P. M. (1993): Influence of N-methyl-D-aspartate on the reproductive axis of male Syrian hamsters. *J Endocrinol,* 137 (2) 247-52. p.

Van Duyse E., Pinxten R., Eens M. (2003): Seasonal fluctuations in plasma testosterone levels and diurnal song activity in free-living male great tits. *Gen Comp Endocrinol,* 134 (1) 1-9. p.

Van Hout A. J. et al. (2009): Complex modulation of singing behavior by testosterone in an open-ended learner, the European Starling. *Horm Behav,* 56 (5) 564-73. p.

van Nassauw L., Harrisson F., Callebaut M. (1993): Smooth muscle cells in the peritubular tissue of the quail testis. *Eur J Morphol,* 31 (1-2) 60-4. p.

Vigh H. B., Kondics L. (1984): Összehasonlító szövettan. Budapest: Tankönyvkiadó, 368. p.

Vinson G. P. et al. (1979): Comparative and evolutionary aspects of aldosterone secretion and zona glomerulosa function. *J Endocrinol,* 81 (2) 5P-24P. p.

Wacker D. W. et al. (2010): Seasonal changes in aromatase and androgen receptor, but not estrogen receptor mRNA expression in the brain of the free-living male song sparrow, Melospiza melodia morphna. *J Comp Neurol,* 518 (18) 3819-35. p.

Wall J. P., Cockrem J. F. (2010): Effects of corticosterone treatment in laying Japanese quail. *Br Poult Sci,* 51 (2) 278-88. p.

Walsh P. T. et al. (2011): Individuality in nest building: Do Southern Masked weaver (Ploceus velatus) males vary in their nest-building behaviour? *Behav Processes,* 88 (1) 1-6. p.

Wikipedia. Eugene Schieffelin. *http://en.wikipedia.org/wiki/Eugene_Schieffelin*,

Wiley R. H. et al. (1993): Singing in relation to social dominance and testosterone in white-throated sparrows. *Behaviour,* 127 175-190. p.

Williams D. D. (1958): A histological study of the effects of subnormal temperature on the testis of the fowl. *Anat Rec,* 130 (2) 225-41. p.

Williams H. (2004): Birdsong and singing behavior. *Ann N Y Acad Sci,* 1016 1-30. p.

Wingfield J. C. (1994): Regulation of territorial behavior in the sedentary song sparrow, Melospiza melodia morphna. *Horm Behav,* 28 (1) 1-15. p.

Wingfield J. C., Farner D. S. (1978): The annual cycle of plasma irLH and steroid hormones in feral populations of the white-crowned sparrow, Zonotrichia leucophrys gambelii. *Biol Reprod,* 19 (5) 1046-56. p.

Wingfield J. C. et al. (2003): Effects of temperature on photoperiodically induced reproductive development, circulating plasma luteinizing hormone and thyroid hormones, body mass, fat deposition and molt in mountain white-crowned sparrows, Zonotrichia leucophrys oriantha. *Gen Comp Endocrinol,* 131 (2) 143-58. p.

Wingfield J. C. et al. (1996): Interrelationship of day length and temperature on the control of gonadal development, body mass, and fat score in white-crowned sparrows, Zonotrichia leucophrys gambelii. *Gen Comp Endocrinol,* 101 (3) 242-55. p.

Wingfield J. C., Matt K. S., Farner D. S. (1984): Physiologic properties of steroid hormone-binding proteins in avian blood. *Gen Comp Endocrinol,* 53 (2) 281-92. p.

Wingfield J. C. et al. (1992a): Environmental predictability and control of gonadal cycles in birds. *Journal of Experimental Zoology,* 261 (2) 214-231. p.

Wingfield J. C., Silverin B. (1986): Effects of corticosterone on territorial behavior of free-living male song sparrows Melospiza melodia. *Horm Behav,* 20 (4) 405-17. p.

Wingfield J. C., Vleck C. M., Moore M. C. (1992b): Seasonal changes of the adrenocortical response to stress in birds of the Sonoran Desert. *J Exp Zool,* 264 (4) 419-28. p.

Witschi E. (1935): Origin of asymmetry in the reproductive system of birds. *American Journal of Anatomy,* 56 (1) 119-141. p.

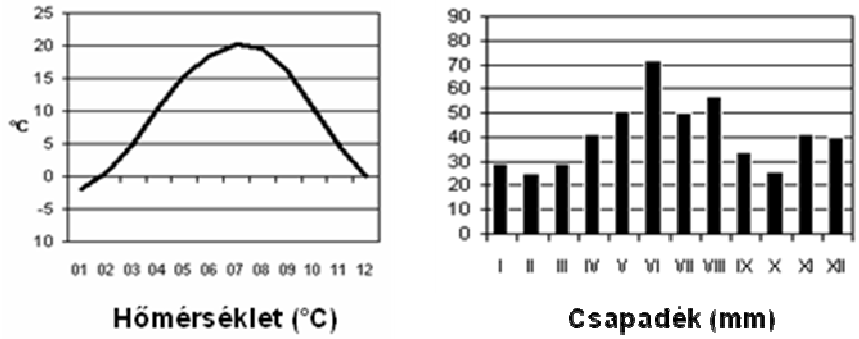
Witter M. S., Goldsmith A. R. (1997): Social stimulation and regulation of body mass in female starlings. *Anim Behav,* 54 (2) 279-87. p.

Xuan D. T. et al. (2005): Seasonal changes in plasma dehydro-epiandrosterone (DHEA) levels of domestic geese. *Acta Biol Hung,* 56 (1-2) 11-20. p.

Yasuo S. et al. (2005): The reciprocal switching of two thyroid hormone-activating and -inactivating enzyme genes is involved in the photoperiodic gonadal response of Japanese quail. *Endocrinology,* 146 (6) 2551-4. p.

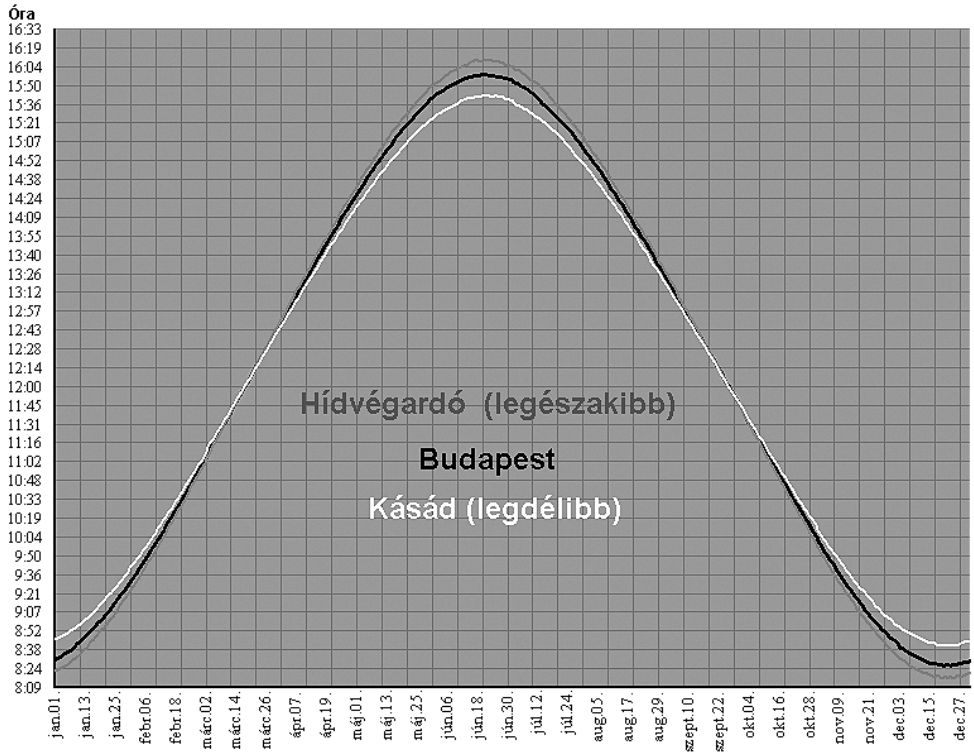
Yoshimura T. et al. (2003): Light-induced hormone conversion of T4 to T3 regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature,* 426 (6963) 178-81. p.

M2.



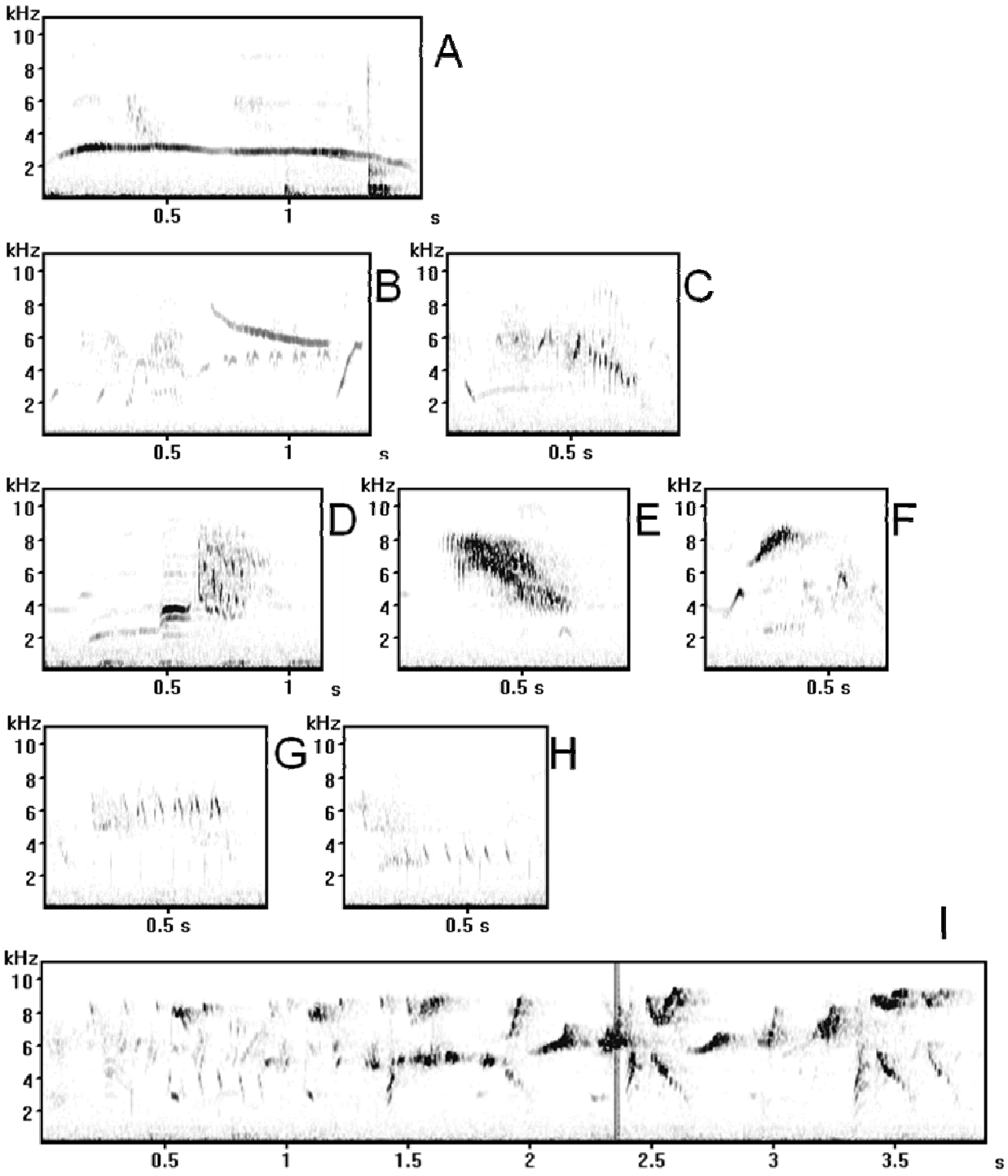
Országos átlagos havi középhőmérsékletek és csapadékmennyiségek az 1961-1990 közötti időszakban. Az Országos Meteorológiai Szolgálat adatai alapján: http://www.met.hu

M3.



A nappalok hosszának változása az éves ciklus során. Az Európai Meteorológiai Szolgálat adatai alapján: http://eumet.hu

M4.



Teljes seregély ének (song bout) spektrogramja, mely tartalmazza mind a négy énektípust ; A=fütty (whistle), B-F=változó énektípus (variable song type), G-H=kereplő énektípus (rattle song type), I=magas frekvenciájú énektípus terminálisa (terminal of high-frequency song type)

M5.: Az értekezés témaköréhez kapcsolódó

Lektorált, idegen nyelvű cikk

- ***Pintér Ottó***, *Péczely Péter* (2010) Seasonal changes in hypothalamic gonadotropin-releasing hormone-I immunoreactivity in relation with testicular volume in adult male free-living European starlings (*Sturnus vulgaris*). Acta Biologica Hungarica, 61(3):237-49. (IF: 0,793)

- ***Pintér O,*** *Péczely P, Zsebők S, Zelena D*. (2011) Seasonal changes in courtship behavior, plasma androgen levels and in hypothalamic aromatase immunoreactivity in male free-living European starlings (Sturnus vulgaris). Gen. Comp. Endocrinol., 172(1):151-157 (IF: 3,108)

Magyar nyelvű közlemények referált folyóiratban

- ***Pintér Ottó***, *Péczely Péter* (2003) A seregély (Sturnus vulgaris) mellékvese szövettani jellemzői a szaporodási, valamint az őszi reaktivációs időszakban. Állattenyésztés és Takarmányozás, (52) 2:195-200.

Kongresszusi kiadványokban megjelent közlemények
Idegen nyelvű közlemények

- ***Pintér Ottó***, *Péczely, Péter* (2002) Quantitative histological study of seasonal functional zonation of adrenocortex in starling. Proc. 23rd International Ornithological Congress, Beijing, China. poszter

- ***Pintér Ottó***, *Biczó András, Péczely Péter* (2004) Seasonal variation of two androgens, dehydroepiandrosterone and testosterone in male European starling (Sturnus vulgaris). Proc. 8th. Intern. Symp.Avian Endocr., Phoenix, USA. p. 95. *http://lsweb.la.asu.edu/isae/isae_program%20.html*

- *Péczely Péter, Ladjánszky Veronika, Biczó András, Szőke Zsuzsanna,* ***Pintér Ottó****, Kelemen Katalin, Végi Barbara* (2004) Dehydroepiandrosterone (DHEA): it's possible role in the avian annual cycles. Proc. 8th International Symposium on Avian Endocrinology, Phoenix, USA. p. 94.

http://lsweb.la.asu.edu/isae/isae_program%20.html

- ***Pintér Ottó***, *Péczely Péter* (2008) Seasonal variation in neural GnRH-I immunoreactivity in adult male free-living European starlings (Sturnus vulgaris). Proc. MicroCAD 2008 Nemzetközi Tudományos Konferencia, Miskolc, Hungary. pp. 51-56.

Magyar nyelvű közlemények

- ***Pintér Ottó***, *Péczely Péter* (2002) A seregély (Sturnus vulgaris) mellékvese szövettani jellemzői a szaporodási, valamint az őszi reaktivációs időszakban. 9. Szaporodásbiológiai Találkozó, Balatonfüred. poszter
  http://www.szapbiol.hu/rendez/archiv/09/09.html

- ***Pintér Ottó***, *Péczely Péter* (2004) A tőkés réce mellékvese szövettani jellemzői az éves ciklus folyamán. X. Ifjúsági Tudományos Fórum, Keszthely – előadás + absztrakt. CD kiadvány.

- ***Pintér Ottó*** (2006) Az XX és XY agyi sejtek különbözőek? Endokrin Centrumok továbbképzései: TRENDS 4.: Gonádműködés, gonádhatás, inkább férfiaknál, December 20., Budapest – előadás
  http://www.endokrinologia.hu/kongresszusok.aspx?oldcongress=1&

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet szeretnék mondani témavezetőmnek **Dr. Péczely Péter** Tanár Úrnak a szakmai irányításért, aki lehetőséget adott e téma kivitelezésére és építő kritikájával segítette a munkát.

Hasonlóképpen köszönom a Szaporodásbiológiai Tanszék minden kedves munkatársának, **Biczó Andrásnak, Ferencziné Szőke Zsuzsannának, Csépány Gábornak, Bara Sándornénak, Ladjánszky Veronikának, Váradi Évának és Végi Barbarának** az önzetlen segítségüket és támogatásukat.

Hálás vagyok **Dr. Kovács J. Krisztinának**, hogy lehetőséget biztosított az immuncitokémia elvégzésére, továbbá az MTA KOKI Molekuláris Endokrinológia Kutatócsoport minden kedves munkatársának, **Földes Annának, Miklósi Ildikónak, Bali Balázsnak, Dénes Ádámnak, Darida Miklósnak, Molnár Andreának, Küblerné Pintér Bernadettnek és Ferenczi Szilamérnek** a baráti biztatásért.

Köszönöm **Dr. Gerendai Ida** Professzor Asszonynak, hogy szakmai kritikájával segítette a cikkek megírását.

Köszönettel tartozom csoportvezetőmnek **Dr. Zelena Dórának** a rengeteg szakmai segítségért, továbbá az MTA KOKI Magatartásélettan és Stressz Kutatócsoport minden kedves munkatársának, **Dr. Haller Józsefnek, Klausz Barbarának, Gyimesiné Pelczer Katalinnak, Bakos Nikolettának, Aliczki Manónak, Tulogdi Áronnak, Barsvári Beátának, Till Ibolyának, Barna Istvánnak,** hogy kellemes munkakörnyezetet teremtettek.

Köszönöm **Dr James R. Millam** Professzor Úrnak a GnRH-I és **Dr. Nobuhiro Harada** Professzor Úrnak az ARO ellenanyagokat.

Köszönöm **Dr. Garamszegi Lászlónak** és **Zsebők Sándornak** a hanganalízisben nyújtott segítséget és a szakmai tanácsokat.

Köszönet illeti **Csépány Miklós** vadász **és Mátovity Csab**a madarász kollégákat a terepen nyújtott önzetlen segítségükért.

Köszönöm feleségemnek, **Pintér-Tisza Szilviának** a türelmet és a sokévi támogatást biztatást, valamint a disszertáció nyelvi lektorálását.

Végül, de nem utolsósorban, mérhetetlenül hálás vagyok szüleimnek, **id. Pintér Ottónak és Pintér Magdolnának,** hogy a nehéz körülmények ellenére is mindvégig támogatták a taníttatásomat.