

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Utódgondozás egy bogárfajnál:
Szülői szerepek és befektetések**

Lévai-Kiss Johanna

Témavezető: Prof. Dr. Barta Zoltán



DEBRECENI EGYETEM
Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

Debrecen, 2023

I. Bevezetés és célkitűzések

Az utódgondozás az állatvilágban az állati viselkedés alapvető eleme, amely a szülők részéről idő és energia befektetéssel jár (Royle *et al.*, 2012). A utódgondozás különböző formákban nyilvánulhat meg, beleértve az utódok és a fészek védelmét, a tojások inkubálását, az ivadékok tisztogatását, etetését, illetve tanítását. Az utódgondozás elsődleges előnye az utódok túlélési arányának, rátermettségének növelése, optimális növekedésének és fejlődésének biztosítása (Roff, 2002; Schrader *et al.*, 2015). Az utódok túlélésének növekedésével a szülők potenciális szaporodási sikere is nő, amellyel együtt a génátadás valószínűsége is növekszik, s ez mindkét szülő számára előnyös (Royle *et al.*, 2012). Azonban a gondozás, a kölcsönös előnyök ellenére, gyakran konfliktusforrás is a szülők között, mivel bár az előnyök közösek, a költségeket minden szülő maga viseli, így nem mindegy, hogy melyik szülő mennyit fektet a gondozásba (Royle *et al.*, 2016). A szülők alapvetően arra törekednek, hogy minimalizálják egyéni szülői erőfeszítéseiket, ennek megfelelően a szülők közötti konfliktus potenciálisan csökkentett szülői befektetést vagy akár a szülő dezertálását is eredményezheti (McNamara *et al.*, 1999). A dezertálás bizonyos körülmények között előnyös lehet, például ha nagy a új partner találásának valószínűsége, és az elhagyott szülő képes egyedül is kielégítő gondoskodást biztosítani. Másfelől a szülők kompromisszum is köthetnek egymással, „alkudozással” is feloldhatják a kialakult konfliktust (McNamara *et al.*, 1999; Lessells, 2012).

Habár az utódgondozás különböző formái a madarak, emlősök és halak esetében a legismertebbek és legjobban tanulmányozottak, ez a viselkedés nem csupán a gerincesek kiváltsága. A rovarvilágban az utódgondozási stratégiák széles skálájával találkozhatunk, ezeket két csoportba, prenatális és posztnatális kategóriákba sorolhatjuk (Trumbo, 2012; Wong *et al.*, 2013). A prenatális gondozás során a szülők jelentős energiát fektetnek be utódaikba már azok születése vagy kikelése előtt, biztosítva számukra a létfontosságú forrásokat és védelmet. Ez a proaktív gondozás olyan viselkedésformákat foglal magában, mint a

megfelelő tojásrakó helyek gondos kiválasztása, a tojások őrzése és szállítása, valamint a tojásból kikelő utódok táplálékának biztosítása. Miután az utódok megszülettek vagy kikeltek, az utódok gondozása folytatódhat, a posztnatális szakaszban közvetett vagy közvetlen gondoskodás formájában valósulhat meg. Ez a folyamatos elkötelezettség a szülők részéről magában foglalja a fészkek és az utódok védelmét, gondozását és a táplálékhoz való hozzáférésük biztosítását (Smiseth & Moore, 2007).

Annak függvényében, hogy mely szülő gondoz, megkülönböztetünk anyai, apai, illetve kétszülős utódgondozási rendszereket. Az utódgondozást mutató rovar fajok esetében a környezet jellemzően változékony, rideg, a táplálék ellátottság nagyon bőséges vagy gyér, illetve jellemzően nagy a predációs nyomás. (Wilson, 2000). Habár a kétszülős utódgondozással rendelkező fajok igen változatosak lehetnek bizonyos aspektusokból, taxonómiai hovatartozás tekintetében is, néhány jelleg szinte kivétel nélkül fellelhető. Például a fészkeiket jellemzően a föld alá vagy faodvakba építik (Brandmayr, 1992). Továbbá, jellemző a hím dominancia a fészekőrzésben, a rivális hímek, vetélytársak, predátorok távoltartása végett (Tallamy & Wood, 1986; Tallamy, 2001). A táplálékforrások elérhetőségének biztosítása szintén kulcsfontosságú szerepet játszik a kétszülős utódgondozásban, mivel bizonyos táplálékforrások, mint például a korhadó fa, vagy az efemer tápláléktípusok, lásd dög és a trágya őrzése és feldolgozása a szülők által esszenciális az utódok számára (Tallamy & Wood, 1986; Tallamy, 1994). Egyes kétszülős utódgondozású fajok a fészket jellemzően az utódok táplálékforrásában alakítják ki (pl. csótányok), vagy az utódok kikelése előtt szállítják a fészkekbe és dolgozzák fel a teljes lárvakori táplálékot (pl. ganéjtúrók, álганéjtúrók) (Smiseth & Moore, 2007; Hunt & Simmons, 2002a). Az utódgondozó viselkedésformák diverzitásának megértése érdekes betekintést nyújthat az utódgondozás evolúciójába. Továbbá, az utódgondozást potenciálisan alakító ökológiai, szociális és evolúciós tényezők feltárása hozzájárulhat az evolúciót mozgató, mögöttes mechanizmusok megértéséhez. A rovarok utódgondozásának

vizsgálata továbbá kulcsfontosságú a hatékony természetvédelmi kezelések kidolgozásához, tekintettel az élőhelyvesztés, az éghajlatváltozás és az antropogén tényezők miatt számos rovarfajra leselkedő veszélyekre (Wagner *et al.*, 2021). Törekedve arra, hogy a kétszülős utódgondozásról, valamint az azt formáló különböző faktorokról átfogóbb képet kaphassunk bogarak esetében, doktori képzésem során egy több szempontból is unikális bogárfaj, a nagyfejű csajkó (*Lethrus apterus*) szaporodási és utódgondozási rendszerét vizsgáltam.

A nagyfejű csajkó (*Lethrus apterus* Laxmann, 1770) azon kevés bogárfajok közé tartozik, amelyek kétszülős utódgondozást mutatnak. Ezek a feketés színezetű, röpképtelen, iteropár bogarak kizárólag növényi eredetű táplálékot fogyasztanak és főként a Magyarországtól a Don folyóig terjedő sztyeppéken fordulnak elő (Nikolajev, 2003). Mind a hímek, mind a nőstények robusztus mandibulákkal rendelkeznek, mely a növények hajtásának lerágásához adaptálódott (Nikolajev, 2003). A fajra jellemző az ivari dimorfizmus, a hímek egy pár mandibuláris függelék (agyard) viselnek. A szaporodási időszak márciustól május végéig tart, ezalatt a hímek aktívan keresik és őrzik a nőstények által lakott járatokat (Frantsevich *et al.*, 1977; Nikolajev, 2003). A rezidens hímek vehemensen védik a fészket a ragadozókkal, a vetélytársakkal, betolakodókkal szemben. A hímek az agyard hosszának és alakjának tekintetében változatosságok mutatnak (Rosa *et al.*, 2019): A nagyobb hímek viszonylag hosszabb agyarddal rendelkeznek, míg a kisebb hímek testméretükhöz képest aránytalanul kisebb agyarddal. Ezzel szemben a közepes méretű hímeknél a testméret növekedésével az agyard hossza arányosan nő. A különböző méretű hímek továbbá eltérő küzdő és fészkekőrző viselkedést mutatnak. A kisebb betolakodó hímek általában kerülnek a konfliktust és a rezidens hímekkel folytatott küzdelmeket, ellentétben a nagyobb hímekkel (Rosa *et al.*, 2018).

Korábbi megfigyelések szerint a nagyfejű csajkó kétszülős utódgondozású, monogám faj (pl. Hamilton, 1979). Ezen források alapján a pár közös fészekésését követően a hímek feladata a felszíni

leveles hajtások összegyűjtése és fészekhez szállítása, míg a nőtények a fészekben feldolgozzák leveleket, ezekből levélabdacsot formálnak a költőkamrákban, amely a petéből kikelő lárvá táplálékát biztosítja (pl. Emich, 1884; Schreiner, 1906; Kosztolányi *et al.*, 2015). A XIX., illetve XX. századi megfigyelések alapján a szülők közötti feladatmegosztás, illetve szaporodás és utódgondozás nagyon hasonló a *Cephalodesmus* ganéjtúrónál megfigyelt viselkedéshez (Dalglish & Elgar, 2005). Ennek megfelelően a nagyfejű csajkó nőtény a labdacsok elkészülését követően, egy-egy tojást helyez minden egyes labdacs belsejébe, amelyet ezt követően a költőkamrák végébe gurít (Emich, 1884). A nagyfejű csajkók fészkeinek feltárásai azonban másfajta tojáshelyezésre utalnak, eszerint a megtermékenyített pete lerakását követően a nőtény azt egy finom talajréteggel választja el, s ezt követően készíti el a levél labdacsot (személyes megfigyelés, de lásd von Lengerken, 1939). Továbbá a legújabb tanulmányok eredményei arra utalnak, hogy a nőtények elsősorban a levélgyűjtésért, illetve a költőkamrák növényi anyaggal való feltöltéséért felelősek, míg a hímek szerepe inkább a fészek betolakodókkal szembeni védelmére összpontosul (Nikolajev, 2003; Kosztolányi *et al.*, 2015). Ezen ellentmondások a korábbi irodalmak illetve az újabb megfigyelések között a nagyfejű csajkó szaporodási viselkedésének mélyrehatóbb vizsgálatát sürgetik, különös tekintettel a két ivar szerepére.

A feladatspecializáció gyakran a nemek között eltérő mozgás és aktivitás mintázatokban is megjelenik (Hunt & Simmons, 2002a). **Feltételezve, hogy a nőtény és hím nagyfejű csajkók mozgásmintázata is tükrözi a szülői szerepeket és a nemek közötti feladatmegosztást, első tanulmányunkban (1. vizsgálat) talajcsapdák használatával végeztünk terepi vizsgálatot egy természetes nagyfejű csajkó populáción.**

A nemek mozgására és aktivitás mintázatára vonatkozó tanulmányunkat követően a nagyfejű csajkó nőtények és hímek felszíni viselkedési repertoárját vizsgáltuk. A kétszülős utódgondozású fajoknál a hímek hasznát húzhatnak az apaságuk védelmén felül azzal, hogy a családdal maradv elriasztják a

riválisokat, növelik az attraktivitásukat, s így növelik a jövőbeli párzási lehetőségeiket is (Hunt & Simmons, 2002a; Kvarnemo, 2006; Keppner & Steiger, 2021). A szülők között az utódgondozásba fektetésben gyakran előfordul asszimmetria, és változatos válaszreakciók születhetnek a szülő részéről, ha partnere szülői erőfeszítései csökkennek (Harrison *et al.*, 2009). A kétszülős utódgondozási rendszerekben, ha az egyik szülő cselekvőképtelenné válik, dezertál vagy meghal, a partnere némileg növelheti a befektetését, ezzel kompenzálva kieső társát (McNamara *et al.*, 2003). A szülői döntések flexibilitásának és azok szaporodási sikerre gyakorolt hatásának tanulmányozására az egyik szülő kísérleti eltávolítása gyakran alkalmazott kísérleti eljárás. Ezért **második vizsgálatunk (2. tanulmány) elsődleges célja az volt, hogy jellemezzük a nőstény és hím egyedek felszíni viselkedését, és tisztázzuk a hímek szerepét az utódgondozás során, illetve hogy megértsük a szülők hozzájárulását az utódgondozáshoz. Másodsorban, hím eltávolításos kísérleteket végeztünk annak feltárására, hogy az egyes szülők hogyan befolyásolják az utódok túlélését és a reprodukív sikert, valamint hogy meghatározzuk az egyes szülők szerepét a szaporodási folyamatban.**

A hímek utódgondozásban betöltött szerepének vizsgálatát követően azt tanulmányoztuk, hogy a különböző hím morfortípusok között lehetnek-e különbségek a párzási viselkedésben. A ivari dimorfizmust mutató bogarak esetében, mint például a nagyfejű csajkó, a hímek gyakran rendelkeznek megnagyobbodott jellegekkel, fegyverekkel, amelyek az intraszexuális agresszió és a párzás célját szolgálhatják (Kawano, 2006; Emlen, 2008), továbbá intraszexuális fenotípusos variabilitást mutathatnak jelleg a tekintetében (Simpson *et al.*, 2011; McCullough *et al.*, 2015). Ezek a fegyver- vagy testméretbeli eltérések jellemzően alternatív reprodukciós taktikákkal (ART) járhatnak együtt, amelyeket valószínűleg a párzási lehetőségekért zajló versenyben való részvétel eltérő lehetőségei vezérelnek (Brockmann, 2008). Különböző mozgásmintázatok is kapcsolódhatnak ezekhez a taktikákhoz, mivel az egyedeknek a választott stratégiától függően eltérő mozgásra lehet szükségük

(Kokko & Jennions, 2008). Például a lopakodó vagy szatellit viselkedést alkalmazó hímek óvatosan mozoghatnak a nőstények eléréséhez, elkerülve a domináns hímek általi észlelést (Moczek & Emlen, 2000; Hunt & Simmons, 2002b). Ezzel szemben a hagyományos párkereső viselkedést alkalmazó hímek aktívabban mozognak, hogy megtalálják a szexuálisan receptív nőstényeket (Simmons, 2002; Renault, 2020). **Harmadik vizsgálatunkban (3. tanulmány) azt kutattuk, hogy a különböző hím morfortípusok különböző szaporodási taktikákat alkalmaznak-e, ezért fogás-jelölés-visszafogás módszert alkalmaztunk, a teljes aktív időszakot felölelve.**

Az ivarak szaporodásban betöltött szerepét vizsgálva felkeltette érdeklődésünket a reprodukív befektetés és az önfenntartás, azaz az immunitás közötti kapcsolat. Az erőforrások szaporodásba és az önfenntartásba (immunitásba) történő allokációjára jellemző az érzékeny egyensúly megtartása, különösen az iteropár (több éven keresztül szaporodó) bogarak esetében (Roff, 2002; Rauw, 2012). Kompromisszum várható abban, hogy a korlátozott erőforrások milyen arányban kerüljenek befektetésre ezekbe a jellegekbe (Rolff & Siva-Jothy, 2002; Schwenke *et al.*, 2016). A reprodukciós időszakban az erőforrások szaporodásba, udvarlásba és utódgondozásba történő allokálása energetikailag igen költséges lehet (Bell, 1980; Clark, 2012). Ezért az állatok a szaporodási időszakban a reprodukciós befektetéseket előnyben részesíthetik a parazitafertőzések, patogének elleni küzdelemmel szemben (Martin *et al.*, 2007). A szaporodási szezont követően azonban az immunkapacitás előtérbe helyezése növeli a túlélés esélyét a következő szaporodási szezonig (Lochmiller & Deerenberg, 2000; Huyghe *et al.*, 2010). Továbbá, az immunitás és a szaporodás közötti kapcsolat az egyéni kondíciótól függően változhat (Ryder & Siva-Jothy, 2001; Rantala *et al.*, 2003). **Negyedik tanulmányunkban (4. vizsgálat) az immunkapacitás, a reprodukív befektetések, az ivar, a testméret, parazita terhelés és a szezonális közötti bonyolult kapcsolatrendszer vizsgáltuk, különböző testméretű nőstényeken és hímeken végzett**

enkapszulációs tesztek és a hemolimfa baktérium növekedésgátló kapacitásának meghatározásával, valamint a reprodukzív szövetek mérése révén. Ez a vizsgálat a szaporodási időszak mind korai, mind késői szakaszára egyaránt kiterjedt.

II. Anyag és módszerek

1. tanulmány. A terepmunkát 2015-ben Dorogháza község (47°59'29"N, 19°53'36"E) közelében, a Mátra hegységben, egy dombos legelőn végeztük. Az általunk kiválasztott vizsgálati terület egy 100 m²-es szelvényt foglalt magában, ahol 11x11-es négyzetrács mentén helyeztünk el a talajcsapdákat. Az első megfogás során minden bogarat egyedileg megjelöltünk lakkfilccel, és digitális tolómérővel lemértük a pronotum szélességét. Az egyedek ivarát az "agyar" megléte vagy hiánya alapján határoztuk meg. Elemzéseink célja az volt, hogy feltárjuk a nőstények és hímek közötti különbségeket az egyedek (vissza)fogás száma, az első és az utolsó fogás között eltelt idő, valamint az egyed által megtett távolság alapján. Az első és az utolsó találkozás közötti időintervallum és a teljes megtett távolság esetében a visszafogások számára kontrolláltunk.

2. tanulmány. Kétéves, két terepi helyszínen (2017-ben Debrecenben, 2018-ban Ózd-Susán) végzett vizsgálat során a nagyfejű csajkó egyedeinek felszíni aktivitását figyeltük meg két természetes populáción belül. Megfigyeléseink elvégzéséhez a fészkeket, és azok tulajdonosait egyedileg jelöltük. A fészek közelében elhelyezett kamerával mintegy négy órán keresztül rögzítettük viselkedési tevékenységüket. A következő napon a fészkeket véletlenszerűen a kontroll vagy a kezelt csoportba soroltuk, a kezelt csoportba tartozó fészkeknél a hímeket eltávolítottuk. A kezelést követően további négy órán keresztül folytattuk a fészkeknél zajló események rögzítését. Elsősorban a különböző események gyakoriságának, és adott esetben időtartamának, számszerűsítésére összpontosítottunk. Ezek az események a következők voltak: a fészek elhagyása, a levélgyűjtés gyakorisága, a fészek közelében való tartózkodás (a fészekörzés indikátora), valamint a fészekből

való talaj kitúrás gyakorisága (fészekkészítés indikátora). A második populációnál a szaporodási szezon végén az összes korábban megjelölt fészket kiástuk, hogy felmérjük a szaporodási sikerüket. Mivel a kísérlet során a rezidens hímeket gyakran új hímek váltották fel, és egyes kontroll fészkekben a rezidens hím a kísérlet végére elhagyta a fészket, a nőtények a hímek eltávolítására adott viselkedésbeli változásának elemzésekor, a kontroll és a kezelt csoport nőtényei helyett a rezidens, új hímmel párba állt, illetve hím nélküli nőtények adatait hasonlítottuk össze.

3. tanulmány. A nagyfejű csajkók szezonális térhasználatának és mozgási viselkedésének vizsgálatára Ózd-Susa közelében 2016-ban végeztünk vizsgálatot, fogási-jelölés-visszafogás módszert alkalmazva. Négy, 830 méter hosszú vonal transzekten végeztük a felméréseket 39 napon keresztül. Minden jelöletlen egyed megjelöltünk, miután mértük a pronotum szélességét, illetve a hímeknél a bal agyar hosszát is. Minden egyes megjelölt vagy visszalátott egyed azonosítóját, a fogás időpontját, dátumát és GPS-koordinátáit rögzítettük. Két töréspontú szegmentált modell segítségével a hímeket három csoportba soroltuk méretük alapján (Rosa *et al.*, 2019): kicsi (pronotum szélessége $\leq 10,80$ mm; $n=55$), közepes ($10,80$ mm $<$ pronotum szélessége $\leq 12,32$ mm; $n=357$) és nagy (pronotum szélessége $> 12,32$ mm; $n=424$). A nőtények és a különböző hím morfortípusok közötti térhasználati és aktivitásbeli különbségek vizsgálatához elemeztük a (vissza)fogások számát, az első és az utolsó fogás között eltelt időt, valamint az egyedek által két egymást követő fogás között megtett távolságokat, miközben a vizsgálat kezdete óta eltelt napok számát is figyelembe vettük.

4. vizsgálat. A vizsgálatához az egyedek gyűjtését 2017 tavaszán végeztünk Debrecenben. Ennek során mértük a gyűjtött egyedek pronotum szélességét és a hímek esetében a jobb agyar hosszát. 11 mm-nél kisebb pronotum szélességű és 12 mm vagy annál nagyobb pronotum szélességű nőtény és hím egyedet gyűjtöttünk. Ezért a nőtényeket és a hímeket két csoportba soroltuk, nagy vagy kis méretűnek minősítettük. A gyűjtésre március végén és május elején került sor, azaz a szaporodási időszak korai és késői szakaszában.

Mértük az egyedek enkapszulációs válaszát, amely az indukált sejtes és humorális immunválasz indikátoraként szolgált. Emellett mértük az egyedek hemolimfájának baktérium növekedésgátló képességét, ami az antimikrobiális kapacitás mutatója volt. A reproduktív befektetés vizsgálatához a reproduktív szöveteket mértük. A bogarak parazitaterhelését is becsültük az atkafertőzöttség mértéke alapján.

III. Eredmények

1. tanulmány. A nőtényeket nagyobb számban fogtuk vissza, illetve hosszabb ideig voltak jelen a vizsgálati területen, mint a hímek. Továbbá, a nőtények átlagosan kisebb távolságot tettek meg két megfogás között, mint a hímek.

2. tanulmány. Kezeléstől függetlenül, mindkét populációban megfigyeltük, hogy a rezidens hímek gyakran hagyták el fészkeiket, hátrahagyva partnerüket. A kezelés előtti napon végzett megfigyeléseink alapján, mindkét populációban, a nőtények jelentősen nagyobb arányban gyűjtöttek leveleket, mint a hímek. Emellett több időt töltöttek a fészektől távol. Ezzel szemben a hímek mindkét populációban lényegesen több időt töltöttek a fészkek közelében és a fészkek bejáratánál, mint a nőtények. Úgy tűnik, hogy mindkét nem részt vett a fészkepítésben, azonban a nőtények gyakrabban túrtak ki földet a fészkekből. Ami a hím partnerek hatását illeti, megfigyeléseink nem mutattak szignifikáns különbségeket a nőtények viselkedésben rezidens, új hímmel párba állt vagy hím nélküli csoportok között. Érdemes azonban megjegyezni, hogy a hím nélküli fészkekben nagyobb arányban fordultak elő üres költőkamrák, amelyek sikertelen szaporodási eseményekre utalnak.

3 tanulmány. Összesen 1624 bogarat, köztük 788 nőtényt és 836 hímét sikerült megfogni és megjelölni a vizsgálat során. A nagy és közepes méretű hímeket gyakrabban fogtuk vissza, mint a nőtényeket és a kis méretű hímeket. Továbbá, a nőtények a különböző hím morfortípusokhoz képest hosszabb ideig voltak jelen a vizsgálati területen. Érdemes azonban megjegyezni, hogy ezek a különbségek viszonylag kis hatásméretűek mellett mutattak szignifikáns összefüggést. A két fogás között megtett távolságok

változásait elemezve a nőstények és a különböző hím morfortípusok között különbséget találtunk: a közepes méretű hímek a szezon előrehaladtával egyre nagyobb távolságokat tettek meg. Ezzel szemben a nőstények és a kis méretű hímek a szezon előrehaladtával egyre kisebb távolságot tettek meg. Érdekes módon a nagytestű hímek által, két fogás között megtett távolságokban nem találtunk jelentős változást a szezon során.

4. tanulmány. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy az enkapszulációs válasz kondíció-, illetve méretfüggő, a nagyobb egyedek szignifikánsan nagyobb enkapszulációs képességgel rendelkeztek, mint a kisebbek. Az antimikrobiális kapacitás vizsgálatakor jelentős ivarbeli különbséget találtunk, a nőstények erősebb antimikrobiális kapacitást mutattak. Továbbá, a korai szezonban a nagy atkaterhelésű egyedeknél pozitív korreláció mutatkozott az antimikrobiális kapacitás és a reprodukív befektetés között. A késői szezonban azonban ez a kapcsolat negatív korrelációba váltott át. A reprodukív befektetés és immunkapacitás kapcsolatának tekintetében a nőstényeknél a korai szezonban erős pozitív összefüggés volt az össz peteméret és az antimikrobiális kapacitás között. Ez a kapcsolat azonban a késői szezonban már nem volt szignifikáns. Emellett mind a nőstények, mind a hímek esetében a testméret és a szezonális befolyásolta a reprodukív befektetést. Végül a hímek esetében pozitív kapcsolatot találtunk az össz hereméret és az atkaterhelés között.

IV. Következtetések

Értekezésem a nagyfejű szaporodási viselkedésének mélyreható vizsgálatára fókuszál, a potenciális befolyásoló tényezők azonosításával. Ennek megfelelően célom kettős volt: először is feltárni az ivarok szaporodási időszakban betöltött szerepét, és ezzel párhuzamosan tisztázni a korai irodalom és a közelmúltbeli megfigyelések közötti különbségeket. Másodszor, hogy jobban megértsük a kétszülős utódgondozást bogaraknál, illetve annak fennmaradását a fajra ható különféle környezeti, szociális és fiziológiai tényezők feltérképezésével.

Eredményeink fényt derítettek a nagyfejű csajkó hímek és nőtények közötti munkamegosztásra az utódgondozás során (**1., 2. tanulmány**). Ezek alapján a nőtények elsősorban az utódok táplálék ellátásáért felelősek, míg a hímek túlnyomórészt a fészek őrzésével foglalkoznak. Ezen eltérő szerepek az ivaroknál megfigyelt eltérő mozgási és aktivitási mintázatokban is tükröződnek (**1. tanulmány**). Ráadásul, a partnerek befolyását illetően nem figyeltünk meg szignifikáns különbségeket utódgondozó viselkedésben azon nőtények között, amelyek rezidens vagy új hímmel, illetve hím nélkül gondoztak. Megfigyeltük a hímek gyakori dezertálását, új partner után kutatását, amely hímek szülői gondozásba való befektetése ellen szelektálhat (Kokko & Jennions, 2003). Eredményeink (**2. tanulmány**) továbbá azt sugallják, hogy a hímek nagyobb mértékű befektetése, részvállalása a lárvális táplálék biztosításában nem feltétlenül térülne meg, hiszen a nőtények könnyen bőséges táplálékforráshoz tudnak hozzáférni az utódok számára, a hímek pedig könnyen találhatnak maguknak új partnert. A hímek gyakori cseréje, rövidtávú jelenléte a fészeknél azonban arra utal, hogy a nőtények többször és különböző partnerekkel pározhatnak a szaporodási időszakban. Eredményeink összességében ellentmondanak a nagyfejű csajkó szülők szerepeiről és párzási rendszeréről szóló XIX. század végi és XX. századi irodalomban leírtaknak (Emich, 1884; Schreiner, 1906; Hamilton, 1979). A hímek rövid tartózkodási ideje, illetve a hímek gyakori cseréje a fészeknél összességében alátámasztják azt az elképzelést, hogy a nagyfejű csajkó párzási rendszere inkább szekvenciális poligínia, mintsem monogámia (**2. tanulmány**). Ráadásul, eredményeink konzisztensek a három, különböző élőhelyen vizsgált populációk esetében, amelyek még hangsúlyosabbá teszik az általunk ismertetett és a korábbi kutatók eredményei között tapasztalt különbségeket.

A hím morfortípusok mozgási mintázatának és térhasználatának vizsgálata alapján eredményeink azt mutatják, hogy a hímek méretfüggő alternatív párzási taktikákat alkalmazhatnak szaporodási sikerük maximalizálása érdekében (**3. tanulmány**), hasonlóan a polifenizmust mutató más bogárfajokhoz (Hunt &

Simmons, 2002a,b; Renault, 2020). Elképzelhető, hogy a kis hímek besurranó taktikát alkalmazzanak, amit két megfogás között általuk megtett rövidebb távolságok és alacsonyabb visszafogási arányuk is alátámaszt. Másrészt úgy tűnik, hogy a nagytestű hímek sikeresebbek a nőstények monopolizálásában és a pozíciójuk megtartásában a fészkeknél, amit a magasabb visszafogási arányuk és a szezon során két megfogás között megtett közel azonos távolságok is jeleznek. Mindezek mellett a közepes méretű hímek számára a párharcok és a rezidens pozíciók védelme költségesebb lehet a nagyobb hímekhez képest. Ezért nagyobb mobilitásuknak köszönhetően nagyobb párzási sikert érhetnek el szétszóródással, kisebb egyedsűrűségű területek felkeresésével és partner nélküli nőstények felkutatásával, amit a szezon előrehaladtával a két megfogás között megtett távolságok növekedése is alátámaszt. Ezek az eredmények rávilágítanak a testméret és a morfológia fontosságára a párzási viselkedés kialakításában. Azonban a nagyfejű csajkó hímek agyarméretének expresszióját befolyásoló specifikus tényezők, valamint a morfortípusokra ható szelekciós nyomás további vizsgálatokat igényel. Valószínű, hogy a hímek méretét és következésképpen az agyar méretét nem kizárólag a lárvakori táplálékmenyiség és minőség határozza meg, ezért további kutatásokra van szükség a test és az agyar méretének változásaihoz hozzájáruló egyéb tényezők azonosításához.

Végezetül, eredményeink alapján, a nagyfejű csajkó esetében, az erőforrások immunitásba és szaporodásba történő allokációja függ a kondíciótól, illetve befolyásolja az atkafertőzöttség mértéke és a szezonális is (**4. tanulmány**). A nőstények nagyobb antimikrobiális kapacitást mutatnak, míg az enkapszulációs válasz nem különbözik szignifikánsan a nemek között, azonban kondíciófüggő. Mind a nőstényeknél, mind a hímeknél a testméret és a szezonális befolyásolta a reproduktív befektetést. Ezen eredmények alapján úgy tűnik, hogy a nagyfejű csajkó enkapszulációs képessége és reproduktív befektetése kondíciófüggő, hiszen a nagyobb egyedeknél nagyobb az enkapszulációs képesség, továbbá aránytalanul nagyobb az össz

hereméret vagy össz peteméret a kisebb egyedekhez képest. Nőstényeknél a korai szezonban szignifikáns pozitív kapcsolat volt az össz peteméret és az antimikrobiális kapacitás között, azonban ez a korreláció a szezon végén megszűnt. Elképzelhető, hogy a nőstények antimikrobiális anyagokat transzportálhatnak a tojásokba, ezek alapján az immunanyagok fokozott transzgenerációs átadása (trans-generational immune priming) valósul meg. Ha feltételezésünk helytálló, a nőstényeknek valószínűleg többet kell az antimikrobiális kapacitásba fektetniük, hogy ezzel biztosítsák a tojások bőséges antimikrobiális peptidokkal, enzimekkel ellátását (Moret, 2006; Zanchi *et al.*, 2012). Ez magyarázhatja, hogy a hímek esetében miért nem találtunk szignifikáns összefüggést a reprodukív befektetés és az antimikrobiális kapacitás között. Ezen túlmenően a nagy atkaterhelésű egyedek pozitív kapcsolatot mutattak az antimikrobiális kapacitás és reprodukív befektetés között a szezon korai szakaszában, de ez a kapcsolat negatívvá vált a szezon végén. Valószínű, hogy a magas atkafertőzöttségű egyedek képesek egyidejűleg az immunitásra és a szaporodásra is fordítani erőforrásokat, különösen a szaporodási időszak elején. Röviden, a nagyfejű csajkóknál, a szezon során tapasztalt immunitás és reprodukció közötti dinamikus kapcsolat igen bonyolult és összetett. Jelenleg nem rendelkezünk információval a nagyfejű csajkó utódgondozásának hátterében álló hormonális mechanizmusokról, ezért további kutatásokat igényel a reprodukív befektetés, az immunkapacitás és az utódgondozáshoz köthető hormonok közötti kapcsolat feltárása és megértése.

Összefoglalva, értekezésemben négy olyan esettanulmányt mutattam be, amelyek hozzájárulnak a nagyfejű csajkó szaporodásának és utódgondozásbeli viselkedésének jobb megértéséhez. Eredményeink jelentős mértékben hozzájárulhatnak a bogarak utódgondozó viselkedésének, a szexuális szelekciónak és az immunitásnak az evolúciós aspektusból történő tanulmányozásához is, hisz alapot adhatnak további, jövőbeli kutatásokhoz az említett területeken.

(Az irodalomjegyzéket lásd a 34. oldalon, az angol nyelvű tézis után).

V. A disszertáció alapját képező publikációk listája

Kiss, J.*, Németh, Z.*, Kosztolányi, A., Barta, Z. (2020) Differential movement and activity patterns of sexes in a biparental beetle during the reproductive season. *Ecological Entomology* 45:1504-1508.

DOI:<https://doi.org/10.1111/een.12920> (*megosztott elsőszerezőség)

Kiss, J., Rácz, R., Váradi, A., Kosztolányi, A., Barta, Z. (2023) Behavioural repertoire and the effect of male removal in a geotrupid beetle with parental care. *Journal of Zoology* 320: 202-213.

DOI:<https://doi.org/10.1111/jzo.13069>

Kiss, J., Rosa, E.M., Rácz, R., Kosztolányi, A., Barta, Z. (2023) Movement reveals size-dependent male reproductive tactics in a geotrupid beetle with parental care. (Kézirat)

Kiss, J., Rádai, Z., Rosa, E.M., Kosztolányi, A., Barta, Z. (2020) Seasonal changes in immune response and reproductive investment in a biparental beetle. *Journal of Insect Physiology* 121:104000.

DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.104000>



Nyilvántartási szám: DEENK/180/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Lévai-Kiss Johanna

Doktori Iskola: Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

MTMT azonosító: 10057375

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (3)

1. **Kiss, J.**, Rosa, M. E., Rácz, R., Kosztolányi, A., Barta, Z.: Behavioural repertoire and the effect of male removal in a geotrupid beetle with parental care.
J. Zool. [Epub ahead of print], 1-12, 2023. ISSN: 0952-8369.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jzo.13069>
IF: 2.394 (2021)
2. **Kiss, J.**, Németh, Z., Kosztolányi, A., Barta, Z.: Differential movement and activity patterns of sexes in a biparental beetle during the reproductive season.
Ecol. Entomol. 45 (6), 1504-1508, 2020. ISSN: 0307-6946.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/een.12920>
IF: 2.465
3. **Kiss, J.**, Rádai, Z., Rosa, M. E., Kosztolányi, A., Barta, Z.: Seasonal changes in immune response and reproductive investment in a biparental beetle.
J. Insect Physiol. 121 (1), 1-9, 2020. ISSN: 0022-1910.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.104000>
IF: 2.354

További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (5)

4. Rádai, Z., **Kiss, J.**, Nagy, N. A., Somogyi, A. Á., Fülöp, A., Tóth, Z., Alexáné Babits, M., Németh, Z.: State and physiology behind personality in arthropods: a review.
Behav. Ecol. Sociobiol. 76, 1-20, 2022. ISSN: 0340-5443.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00265-022-03259-6>
IF: 2.944 (2021)





5. Nagy, N. A., Németh, Z., Juhász, E., Pólska, S., Rácz, R., **Kiss, J.**, Kosztolányi, A., Barta, Z.:
Intocin, a potential modulator of reproductive behaviours in a biparental beetle, *Lethrus
apterus*.
J. Insect Physiol. 132, 1-9, 2021. ISSN: 0022-1910.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2021.104253>
IF: 2.608
6. Rádai, Z., **Kiss, J.**, Nagy, N. A.: Taxonomic bias in AMP prediction of invertebrate peptides.
Sci. Rep. 11, 1-10, 2021. EISSN: 2045-2322.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-97415-z>
IF: 4.996
7. Rádai, Z., **Kiss, J.**, Babczyńska, A., Kardos, G., Báthori, F., Samu, F., Barta, Z.: Consequences of
rapid development owing to cohort splitting: just how costly is it to hurry?
J. Exp. Biol. 223 (6), 1-15, 2020. ISSN: 0022-0949.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.219659>
IF: 3.312
8. Rosa, M. E., **Kiss, J.**, Barta, Z., Kosztolányi, A.: Size-dependent investment in tusk length, testis
size and sperm length in a biparental geotrupid beetle.
J. Zool. 309 (2), 106-113, 2019. ISSN: 0952-8369.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jzo.12704>
IF: 1.724

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 22,797

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
7,213**

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai
ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján
elvégezte.

Debrecen, 2023.05.30.



**Short thesis for the degree of doctor of philosophy
(PhD)**

**Parental care in a beetle species:
Roles and investments**

by Johanna Lévai-Kiss

Supervisor: Prof. Dr. Zoltán Barta



UNIVERSITY OF DEBRECEN
Juhász-Nagy Pál Doctoral School

Debrecen, 2023

I. Introduction and objectives

Parental care is a fundamental aspect of animal behaviour in the animal kingdom, involving investments of time, energy, and resources in rearing offspring (Royle *et al.*, 2012). This care manifests in various forms, including protection, incubation, grooming, feeding, and teaching. The main advantage of care lies in significantly enhancing offspring survival rates and promoting optimal growth and development (Roff, 2002; Schrader *et al.*, 2015). As offspring survival rates increase, the parents' potential reproductive success and the likelihood of gene transmission also rise, benefiting both parents (Royle *et al.*, 2012). However, parental care, despite its mutual benefits, can often be a source of conflict between parents. This is because while the benefits are shared, each parent bears the individual costs of caregiving, so it matters which parent invests and how much in caregiving (Royle *et al.*, 2016). It is expected that parents seek to minimise their individual parental efforts. On the one hand, these conflicts can potentially result in reduced parental investment or even abandonment (McNamara *et al.*, 1999). Nevertheless, desertion can be advantageous under certain circumstances, such as a high probability of finding a new partner and the capability of the abandoned parent to raise offspring alone. On the other hand, parents can also find resolution through negotiation (McNamara *et al.*, 1999; Lessells, 2012).

Although parental care strategies are the best known and studied in birds, mammals, and fish, this behaviour is not the sole preserve of vertebrates. In the insect world, a wide variety of parental care strategies exist, categorised as either prenatal or postnatal care (Trumbo, 2012; Wong *et al.*, 2013). During prenatal care, parents invest significantly in their offspring before they are born or hatched, ensuring they receive crucial resources and protection. This proactive care involves activities, such as carefully selecting suitable oviposition sites, guarding and transporting eggs, and provisioning. After the offspring are born or hatched, parental dedication may continue, taking the form of either indirect or direct care in the postnatal phase. This ongoing commitment includes defending the

brood, nurturing the young, and ensuring they have access to sustenance (Smiseth & Moore, 2007).

Care behaviour can be observed in both females, males, or in some cases, by both parents. Insects that have evolved parental care tend to thrive in environments that are characterised by exceptional challenges, abundant resources, stability, structure, or high predation pressures (Wilson, 2000). Biparental care exhibits some common characteristics across various species, despite differences in the specifics. For instance, many biparental species tend to construct nests either underground or within wood burrows (Brandmayr, 1992). Moreover, in most of these species, males frequently engage in nest-guarding behaviour to protect against rival competitors (Tallamy & Wood, 1986; Tallamy, 2001). The availability of food resources also plays a pivotal role in biparental care, as certain types of food, like decomposed wood, or those challenging to defend against competitors without parental assistance, such as carrion and dung, are crucial for the offspring (Tallamy & Wood, 1986; Tallamy, 1994). Notably, some biparental species choose to establish nests within the very food source their young rely on (e.g., wood-feeding cockroaches), or they transport food to their nests before their larvae hatch (e.g., dung beetles, dor beetles) (Smiseth & Moore, 2007; Hunt & Simmons, 2002a). Understanding this diversity provides valuable insights into the evolution of such behaviour across species. Exploring the ecological, social, and evolutionary factors shaping parental care enhances our comprehension of the underlying mechanisms driving this evolution. Moreover, examining insect parental care is vital for devising effective conservation strategies, given the threats many insect species face due to habitat loss, climate change, and anthropogenic factors (Wagner *et al.*, 2021). Here, we aimed to enhance a more comprehensive picture of offspring care, as well as the various factors that contribute to its features. To achieve this, the studies presented in my thesis examine the roles and investments of parents during the reproductive season of a beetle species, *Lethrus apterus*, that is unique in several aspects.

Lethrus apterus (Laxmann, 1770) is among the limited number of beetle species that exhibit biparental care. These iteroparous beetles rely solely on plants as their food source, and they are predominantly found in grassland habitats spanning Hungary to the river Don (Nikolajev, 2003). Their adult forms are characterised by black appearances and an inability to fly due to the lack of wings and fused elytra. Both males and females possess robust mandibles for processing plant material (Nikolajev, 2003). *L. apterus* exhibits sexual dimorphism regarding to mandibular processes (“tusks”) worn by males. Mating occurs from March to late May, with males actively seeking and guarding tunnels occupied by females (Frantsevich *et al.*, 1977; Nikolajev, 2003). The resident males vigorously protect the nest against predators, competitors and intruders of the same species. As per the findings of Rosa *et al.* (2019), male *L. apterus* beetles display diversity in tusk length. Larger males tend to have relatively longer tusks, while smaller males have disproportionately smaller tusks relative to their body size. In contrast, medium-sized males exhibit a notable increase in tusk length with increasing body size. Moreover, males of different sizes exhibit variations in their fighting and guarding behaviours. Smaller males are generally less inclined to participate in contests with resident males guarding burrows compared to their larger counterparts (Rosa *et al.*, 2018).

Previous research portrayed *L. apterus* beetles as monogamous with biparental care (Hamilton, 1979). Accordingly, male *L. apterus* collected and transported leaves into the nest, while females processed the plant material to create larval food balls within the nest (e.g., Emich, 1884; Schreiner, 1906; but see Kosztolányi *et al.*, 2015). This biparental care resembled the behaviour seen in *Cephalodesmius* dung beetles (Dalglish & Elgar, 2005). Notably, female *L. apterus* laid one egg within each leaf-ball, which was subsequently rolled to the end of the brood chambers (Emich, 1884). However, nest excavations of *L. apterus* have revealed a different egg placement, with a delicate layer of soil separating it from the leaf-ball (personal observations, see also von Lengerken, 1939).

Furthermore, recent observations suggest that females are primarily responsible for provisioning brood chambers with plant materials, while males' role is more focused on defending the nest against intruders (Nikolajev, 2003; Kosztolányi *et al.*, 2015). These recent discoveries highlight the necessity to reevaluate reproductive behaviour, particularly regarding the distinct roles of both sexes.

Task specialisation often manifests in distinct movement and activity patterns between sexes (Hunt & Simmons, 2002a). **By hypothesising that movement patterns of female and male *L. apterus* beetles also reflect their respective parental roles, and division of tasks between the sexes, in our first study (Study 1), we carried out a field study on a natural population of *L. apterus* using pitfall traps.**

Following our study regarding movement and activity patterns of the sexes, next, we investigated the above-ground behavioural repertoire of the females and males in *L. apterus*. In biparental associations, males benefit from guarding their paternity by staying with the family, deterring rivals, enhancing attractiveness, and increasing future mating opportunities (Hunt & Simmons, 2002a; Kvarnemo, 2006; Keppner & Steiger, 2021). Discrepancies in parental investment often arise, with varied responses when a partner's effort decreases (Harrison *et al.*, 2009). In biparental care systems, if one partner becomes incapacitated, deserts, or dies, the remaining parent may increase its investment somewhat (McNamara *et al.*, 2003). To study the flexibility of parental care decisions and their impact on reproductive success, experimental removal of one parent is a common approach. Therefore, **the first aim of our second study (Study 2) was to characterise the above-ground behaviours of female and male *L. apterus* beetles and clarify the roles of male *L. apterus* during brood care to understand the contributions of each parent in offspring care. Secondly, we conducted male removal experiments in *L. apterus* to explore how each parent distinctly influences the survival and reproductive success of their offspring, as well as define the respective roles of each parent in the breeding process.**

After studying the role of males during brood care, we investigated whether there might be differences in mating behaviour between different morphotypes. Sexually dimorphic beetles, such as *L. apterus*, often feature exaggerated traits, which serve purposes in intrasexual aggression and mating (Kawano, 2006; Emlen, 2008) and may manifest intrasexual phenotypic variability (Simpson *et al.*, 2011; McCullough *et al.*, 2015). This variation in body or weapon size is typically linked to alternative reproductive tactics (ARTs) driven by differences in competitiveness for mating opportunities (Brockmann, 2008). Movement patterns can be linked to these tactics, as individuals may need to move differently depending on their chosen strategy (Kokko & Jennions, 2008). For instance, males employing sneaking or satellite behaviours may move cautiously to access females, avoiding detection by dominant males (Moczek & Emlen, 2000; Hunt & Simmons, 2002b). Conversely, males using traditional mate-searching behaviour may move more actively to locate receptive females (Simmons, 2002; Renault, 2020). **In our third study (Study 3), to investigate whether distinct male morphotypes of *L. apterus* employ different reproductive tactics, we conducted an extensive field survey spanning the entire active season.**

Upon examining the roles of the sexes in reproduction, our interest was piqued regarding the relationship between reproductive investment and self-maintenance, i.e., immunity. Resource allocation in animals involves a delicate balance between reproduction and self-maintenance, including immunity, especially in iteroparous beetles (Roff, 2002; Rauw, 2012). A trade-off exists when deciding how to invest limited resources in these components (Rolff & Siva-Jothy, 2002; Schwenke *et al.*, 2016). During the reproductive season, allocating resources to reproduction, courtship, and parental care can be energetically costly (Bell, 1980; Clark, 2012). Therefore, animals may prioritise reproductive investment over combating parasite infections (reviewed in Martin *et al.*, 2007). Following the reproductive season, prioritising immune function enhances the chances of surviving until the next reproductive season (Lochmiller

& Deerenberg, 2000; Huyghe *et al.*, 2010). Furthermore, the connection between immunity and reproduction can vary depending on individual condition (Ryder & Siva-Jothy, 2001; Rantala *et al.*, 2003). **In our fourth study (Study 4), we examined the intricate interplay among immunity, reproductive effort, sex, parasite load, and season by conducting encapsulation tests and bacterial growth inhibition assays and measuring reproductive tissues on females and males of varying body sizes.** This study encompassed both the early and late stages of the reproductive season.

II. Materials and methods

Study 1. We conducted the fieldwork in 2015 in a hilly meadow near the village of Dorogháza (47°59'29"N, 19°53'36"E), in Mátra Mountain. Our chosen study area encompassed a 100 m² section, where we positioned traps at regular intervals of 1 meter in a square grid pattern. During the initial capture, each beetle was uniquely marked using a paint marker, and we measured the width of their pronotum, which served as an indicator of their body size, using a digital caliper. We determined the sex of each individual based on the presence or absence of the "tusk" feature. Our analyses aimed to uncover differences between females and males in terms of the number of times an individual was (re)captured, the time elapsed between the first and last encounter, and the sum of the distances between successive pitfall traps the individual was caught as a proxy of total distance travelled. In case of the time interval between the first and last encounter and the total travelled distance, we controlled for the number of recaptures.

Study 2. In a two-year investigation carried at two field sites (Debrecen in 2017 and Ózd-Susa in 2018), we observed the above-ground activities of *L. apterus* beetles within natural populations. To conduct our observations, we individually marked both nests and their respective owners. We recorded their behavioural activities for approximately four hours using an action camera positioned near the nest. On the following day, we randomly assigned the nests to either control or treatment groups, specifically removing the male from the

treated group. Following this treatment, we continued to record the activities at the nests for an additional four hours. Our focus was primarily on quantifying the frequency and, when relevant, the duration of various events. These events included instances of beetles being away from the vicinity of the nest, the number of leaf collecting events, staying in the vicinity of the nest (indicating nest guarding), and the frequency of soil removal from the nest (indicating nest construction or maintenance). At the end of the breeding season in the second study, we excavated all the previously marked nests to assess their reproductive success. Given that new males sometimes replaced resident males during the experiment, and in certain control nests, the resident male deserted by the end of the experiment, we analysed the females' responses to male removal, data from females paired with a resident, new or no male were compared instead of females from control and treatment group.

Study 3. We conducted a capture-mark-resight survey to examine the seasonal dispersal and movement behaviour of *L. apterus* beetles near Ózd-Susa in 2016. We established four line transects, each separated by a minimum of four meters, totalling a length of 830 meters. These transects were traversed twice daily for a period of 39 days during our fieldwork. Every unmarked beetle was tagged after measuring the width of its pronotum, and males had the length of their left tusk measured. We recorded the ID, time, date, and GPS coordinates for each marked or encountered individual. Using a segmented model with two breakpoints, as described in Rosa *et al.* (2019), we categorised males into three groups, hereafter referred to as morphotypes: small (pronotum width ≤ 10.80 mm; $n=55$), medium (10.80 mm $<$ pronotum width ≤ 12.32 mm; $n=357$), and large (pronotum width > 12.32 mm; $n=424$). To investigate differences in space use and activity patterns between females and different male morphotypes, we analysed the number of times an individual was encountered, the time elapsed between the first and last encounters, and the distances travelled by individuals between two consecutive encounters, while also controlling for the timing within the breeding season.

Study 4. In the spring of 2017, we conducted beetle collection in Debrecen. During this process, we measured the pronotum width of the collected individuals and the right tusk length of males. Since we collected individuals having pronotum width less than 11 mm or 12 mm or more, we categorised females (n=38) and males (n=33) into categories of large or small. The collection took place in late March and early May, i.e., in the early and late stages of the reproductive season. During this period, we assessed the encapsulation response of the individuals, which served as an indicator of their induced cellular and humoral immune response. Additionally, we measured the bacterial growth inhibition ability of the haemolymph, which indicated their antimicrobial capacity. For investigating reproductive investment, we quantified the size of reproductive tissues. We also estimated the beetle's parasite load by assessing the level of mite infection.

III. Results

Study 1. We found that females were (re)captured more frequently, and were resighted for a longer time in the study area than males. We also found that females travelled significantly shorter distances on average than males when controlling for the number of recaptures.

Study 2. Regardless of treatment, we consistently observed that males frequently deserted their nests, leaving the brood and females behind, within both populations. During the pre-treatment day, our observations revealed that females, in both populations, exhibited a notably higher rate of leaf collection compared to males. Additionally, they spent more time away from the nest. In contrast, males spent significantly more time within the vicinity of the nest and at the nest entrance than females within both populations. While both sexes appeared to contribute to nest construction activities, females engaged in more frequent nest maintenance actions. Concerning the influence of male partners, our observations did not reveal any significant differences in parental behaviour among females paired with resident, new, or no males. However, it's worth

noting that nests lacking male residency displayed a higher occurrence of empty brood chambers, indicating unsuccessful reproductive events.

Study 3. A total of 1624 beetles, comprising 788 females and 836 males, were successfully captured and marked during our study. We found that large- and medium-sized males were resighted more frequently than females and small-sized males. Furthermore, we observed that females remained detectable in the study area for a longer duration when compared to the different male morphotypes. However, it is worth noting that these differences resulted in relatively small effect sizes. Upon analysing the variations in travel distances between two encounters among females and male morphs, we found that medium-sized males exhibited a significant increase in the distances they travelled as the season progressed. Conversely, females and small-sized males displayed a trend of decreasing travel distances as the season progressed. Interestingly, we did not find any significant changes in the travel distances of large males throughout the season.

Study 4. We found that the encapsulation response exhibited size-dependent characteristics, with larger individuals demonstrating significantly higher encapsulation ability than smaller ones. When examining antimicrobial capacity, we found a notable sex bias, with females displaying stronger antimicrobial capacity. Furthermore, in individuals with a heavy mite load, in the early season, there was a positive correlation between antimicrobial capacity and reproductive investment. However, in the late season, this relationship transitioned to a negative correlation. Concerning reproductive investment, our investigation showed that in females, there was a noteworthy positive association between total egg size and antimicrobial capacity in the early season. However, this association ceased to be significant in the late season. Additionally, in both females and males, we found that body size and season affected reproductive investment. Finally, in males, we found that there was a positive relationship between total testis size and mite load.

IV. Conclusions

My thesis revolves around an in-depth exploration of the reproductive behaviour of *Lethrus apterus*, with a focus on identifying potential influencing factors. Accordingly, my aims were two-fold: Firstly, to uncover the roles played by each sex during the reproductive season and, concurrently, to address the disparities between early literature and contemporary observations. Secondly, to gain a better understanding of biparental care in scarab beetles and, in turn, its persistence by understanding the various environmental, social and intrinsic physiological factors affecting the species.

Our findings shed light on the division of labour between male and female *L. apterus* beetles during offspring care (**Study 1,2**). It's clear that females primarily take on the responsibility of provisioning for their young, while males are predominantly engaged in guarding the nest. These distinct roles are also reflected in the differing movement and activity patterns observed for each sex (**Study 1**). Additionally, regarding the influence of male partners, we observed no significant distinctions in parental behaviour among females paired with a resident, new, or no males. We also observed a prevalence of male desertion in search of additional mating partners, which may select against the investment of males in parental care (Kokko & Jennions, 2003). Furthermore, our study (**Study 2**) implies that male care might not be a worthwhile investment, particularly when females can readily provide an abundance of food resources, and males can easily find new mating partners. However, the occasional short-term presence of males in the nest suggests that females may engage in multiple mating events with different partners throughout a reproductive season. Overall, our results contradict those reported in earlier literature on *L. apterus* parenting roles and mating system (Emich, 1884; Schreiner, 1906; Hamilton, 1979). The short duration of male residence and the frequent male changes at the nests support the idea of sequential polygyny as a characteristic of the mating system in *L. apterus* (**Study 2**). What's intriguing is that our findings remained consistent across three distinct populations

with varying habitats, making discrepancies more prominent between our results and those of previous researchers.

By investigating the movement patterns and space use of male morphs, our results indicate that male *L. apterus* beetles employ size-dependent alternative mating tactics to maximise their reproductive success (**Study 3**), aligning with similar studies on polyphenic beetle species (Hunt & Simmons, 2002a,b; reviewed in Renault, 2020). Small males appear to employ sneak tactics, as evidenced by their shorter travel distances and lower recapture rates. On the other hand, large males seem to be more successful in monopolizing females and maintaining nest positions, as indicated by their higher recapture rates and consistent travel distances throughout the season. Additionally, for medium-sized males, engaging in fights and defending resident positions might be more costly compared to larger males. Therefore, due to their greater mobility, they may achieve higher mating success by dispersing and searching for unpaired females, as supported by their increased travel distances as the season progresses. These findings underscore the importance of body size and morphology in shaping mating behaviour. However, the specific factors influencing the phenotypic expression of male tusks in *L. apterus*, as well as the selection pressures acting upon them, require further investigation. It's plausible that male size, and consequently tusk size, isn't solely determined by larval diet, necessitating additional research to identify other contributing factors to body and tusk size variation.

Finally, our results indicate that the allocation of resources towards immunity and reproduction in *L. apterus* beetles depends on their condition and is influenced by mite infection and the progression of the reproductive season (**Study 4**). Notably, females exhibit a higher antimicrobial capacity, while encapsulation response doesn't differ significantly between the sexes but is condition-dependent. In both females and males, body size and season affected reproductive investment. Based on these findings, encapsulation ability and reproductive investment in *L. apterus* seem to be condition-dependent, with larger individuals having higher

encapsulation ability and disproportionately larger follicle or egg size compared to smaller individuals. In females, we found that there was a significant positive relationship between total egg size and antimicrobial capacity in the early season, however, this association were eliminated in the late season. This suggests that females may transport antimicrobial agents into the eggs, possibly indicating trans-generational immune priming. If there is trans-generational immune priming, females would likely invest more in antimicrobial capacity to ensure an ample supply of antimicrobial agents for the eggs (Moret, 2006; Zanchi *et al.*, 2012). This may also explain the notion that male reproductive investment is not related to antimicrobial capacity. Additionally, individuals with heavy mite loads show a positive relationship between antimicrobial capacity and reproductive investment during the early season, but this relationship turns negative in the late season. This suggests that individuals with high levels of mite infection can allocate resources towards both immunity and reproduction simultaneously, particularly early in the reproductive season. Briefly, the dynamic relationship between immune response and reproduction across the season in *L. apterus* highlights its complexity. The literature currently lacks information on the hormonal mechanisms underlying parental care in *L. apterus* beetles, which warrants further exploration to understand the link between reproductive effort, immunity, and care-related hormones.

In conclusion, I present four case studies in my thesis to contribute to a more comprehensive understanding of the reproductive behaviour of *L. apterus*. These findings can hold substantial implications for advancing the evolutionary study of parental care in beetles, sexual selection and immunity. They also establish a fundamental groundwork for future explorations in these areas.

V. List of publications which constitute the foundations of the thesis

Kiss, J.*, Németh, Z.*, Kosztolányi, A., Barta, Z. (2020) Differential movement and activity patterns of sexes in a biparental beetle during the reproductive season. *Ecological Entomology* 45: 1504-1508.

DOI:<https://doi.org/10.1111/een.12920>

(*shared first authorship)

Kiss, J., Rácz, R., Váradi, A., Kosztolányi, A., Barta, Z. (2023) Behavioural repertoire and the effect of male removal in a geotrupid beetle with parental care. *Journal of Zoology* 320: 202-213.

DOI:<https://doi.org/10.1111/jzo.13069>

Kiss, J., Rosa, E.M., Rácz, R., Kosztolányi, A., Barta, Z. (2023) Movement reveals size-dependent male reproductive tactics in a geotrupid beetle with parental care. (Manuscript)

Kiss, J., Rádai, Z., Rosa, E.M., Kosztolányi, A., Barta, Z. (2020) Seasonal changes in immune response and reproductive investment in a biparental beetle. *Journal of Insect Physiology* 121:104000.

DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.104000>

Irodalomjegyzék / References

- Bell, G. (1980). The Costs of Reproduction and Their Consequences. *The American Naturalist*, 116(1), 45–76.
- Brandmayr, P. (1992). Short review of the presocial evolution in Coleoptera. *Ethology Ecology & Evolution*, 4(sup1), 7–16.
- Brockmann, H.J. (2008). Alternative reproductive tactics in insects. In *Alternative Reproductive Tactics: An Integrative Approach*: 177–223. Oliveira, R.F., Taborsky, M. & Brockmann, H.J. (Eds.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Clark, C.J. (2012). The role of power versus energy in courtship: what is the “energetic cost” of a courtship display?. *Animal Behaviour*, 84(1), 269–277.
- Dalgleish, E.A. & Elgar, M.A. (2005). Breeding ecology of the rainforest dung beetle *Cephalodesmus armiger* (Scarabaeidae) in Toolom National Park. *Australian Journal of Zoology*, 53, 95–102.
- Emich, G. (1884). Die Metamorphose des *Lethrus apterus*. *Mathematische und Naturwissenschaftliche Berichte aus Ungarn*, 2, 184–188.
- Emlen, D.J. (2008). The evolution of animal weapons. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39, 387–413.
- Frantsevich, L., Govardovski, V., Gribakin, F., Nikolajev, G., Pichka, V., Polanovsky, A., Shevchenko, V., & Zolotov, V. (1977). Astroorientation in *Lethrus* (Coleoptera, Scarabaeidae). *Journal of Comparative Physiology*, 121, 253–271.
- Hamilton, W.D. (1979). Wingless and fighting males in fig wasps and other insects. In *Reproductive Competition and Sexual Selection in Social Insects*: 167–220. Blum, M.A. & Blum, N.A. (Eds.). New York: Academic Press.
- Harrison, F., Barta, Z., Cuthill, I., & Székely, T. (2009). How is sexual conflict over parental care resolved? A meta-analysis. *Journal of Evolutionary Biology*, 22, 1800–1812.
- Hunt, J. & Simmons, L.W. (2002a). Behavioural dynamics of biparental care in the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Animal Behavior*, 64, 65–75.
- Hunt, J. & Simmons, L.W. (2002b). Confidence of paternity and paternal care: covariation revealed through the experimental manipulation of the mating system in the beetle *Onthophagus taurus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 15, 784–795.
- Huyghe, K., Van Oystaeyen, A., Pasmans, F., Tadić, Z., Vanhooydonck, B., & Van Damme, R. (2010). Seasonal changes in parasite load and a cellular immune response in a colour polymorphic lizard. *Oecologia*, 163(4), 867–874.

- Kawano, K. (2006). Sexual dimorphism and the making of oversized male characters in beetles (Coleoptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 99(2), 327–341.
- Keppner, E.M. & Steiger, S. (2021). Males benefit personally from family life: evidence from a wild burying beetle population. *Behavioral Ecology*, 32(5), 912–918.
- Kokko, H. & Jennions, M.D. (2008). Parental investment, sexual selection and sex ratios. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(4), 919–948.
- Kokko, H. & Jennions, M. (2003). It takes two to tango. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(3), 103–104.
- Kosztolányi, A., Nagy, N., Kovács, T., & Barta, Z. (2015). Predominant female care in the beetle *Lethrus apterus* with supposedly biparental care. *Entomological Science*, 18(2), 292–294.
- Kvarnemo, C. (2006). Evolution and maintenance of male care: is increased paternity a neglected benefit of care? *Behavioral Ecology*, 17, 144–148.
- Lessells, C. M. (2012). Sexual conflict. In *The evolution of parental care*: 150–170. Royle N.J., Smiseth, P.T. & Kölliker, M.(Eds.). Oxford, UK: Oxford University Press.
- Lochmiller, R.L., & Deerenberg, C.M. (2000). Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity?. *Oikos*, 881(1), 87–98.
- Martin, L.B., Weil, Z.M., & Nelson, R.J. (2008). Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 363, 321–339.
- McCullough, E.L., Ledger, K.J., O'Brien, D.M., & Emlen, D.J. (2015). Variation in the allometry of exaggerated rhinoceros beetle horns. *Animal Behaviour*, 109, 133–140.
- McNamara, J.M., Houston, A.I., Barta, Z. & Osorno, J.-L. (2003). Should young ever be better off with one parent than with two?. *Behavioral Ecology*, 14(3), 301–310.
- Moczek, A.P. & Emlen, D.J. (2000). Male horn dimorphism in the scarab beetle, *Onthophagus taurus*: do alternative reproductive tactics favour alternative phenotypes?. *Animal Behaviour*, 59(2), 459–466.
- Moret, Y., (2006). “Trans-generational immune priming”: specific enhancement of the antimicrobial immune response in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1592), 1399–1405.
- Nikolajev, G.V. (2003). [Scarab[?]-beetles (Scarabaeidae, Geotrupinae, Lethrini): biology, systematics, distribution, determination.] [Almaty]: Cossack of [universitet]i.

- Rantala, M.J., Kortet, R., Kotiaho, J.S., Vainikka, A., & Suhonen, J. (2003). Condition dependence of pheromones and immune function in the grain beetle *Tenebrio molitor*. *Functional Ecology*, 17, 534–540.
- Renault, D. (2011). Long-term after-effects of cold exposure in adult *Alphitobius diaperinus* (Tenebrionidae): the need to link survival ability with subsequent reproductive success. *Ecological Entomology*, 36(1), 36–42.
- Rauw, W.M. (2012). Immune response from a resource allocation perspective. *Frontiers in genetics*, 3, 267.
- Roff, D.A. (2002). Life History Evolution. Sunderland, Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc.
- Rolff, J. & Siva-Jothy, M.T. (2002). Copulation corrupts immunity: A mechanism for a cost of mating in insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(15), 9916–9918.
- Rosa, M.E., Barta, Z., & Kosztolányi, A. (2018). Willingness to initiate a fight but not contest behaviour depends on intruder size in *Lethrus apterus* (Geotrupidae). *Behavioural Processes*, 149, 65–71.
- Rosa, M.E., Kiss, J., Barta, Z., & Kosztolányi, A. (2019). Size-dependent investment in tusk length, testis size and sperm length in a biparental geotrupid beetle. *Journal of Zoology*, 309(2), 106–113.
- Royle, N.J., Smiseth, P.T., & Kölliker, M. (2012). The evolution of parental care: summary, conclusions and implications. In *The Evolution of Parental Care*: 327–345. Royle, N.J., Smiseth, P.T. & Kölliker, M. (Eds.). Oxford, UK: Oxford University Press.
- Royle, N.J., Alonzo, S.H., & Moore, A.J. (2016). Co-evolution, conflict and complexity: what have we learned about the evolution of parental care behaviours? *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 12, 30–36.
- Ryder, J.J., & Siva-Jothy, M.T. (2001). Quantitative genetics of immune function and body size in the house cricket, *Acheta domesticus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 14(4), 646–653.
- Schrader, M., Jarrett, B.J.M., & Kilner, R.M. (2015). Using experimental evolution to study adaptations for life within the family. *The American Naturalist*, 185(5), 610–619.
- Schreiner, J. (1906). Die Lebensweise und Metamorphose des Rebenschneiders oder grossköpfigen Zwiebelhornkäfers (*Lethrus apterus* Laxm.). *Horae Societatis Entomologicae Rossicae*, 37, 197–208.
- Schwenke, R.A., Lazzaro, B.P., & Wolfner, M.F. (2016). Reproduction–immunity trade-offs in Insects. *Annual Review of Entomology*, 61(1), 239–256.
- Simmons, L.W. (2002). Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. Princeton University Press

- Simpson, S.J., Sword, G.A., & Lo, N. (2011). Polyphenism in insects. *Current Biology*, 21(18), R738–R749.
- Smiseth, P.T. & Moore, A.J. (2007). Signalling of hunger by senior and junior larvae in asynchronous broods of a burying beetle. *Animal Behaviour*, 74(4), 699–705.
- Tallamy, D.W. (1994). Nourishment and the evolution of parental investment in subsocial arthropods. In *Nourishment and evolution in insect societies*: 21–55. Hunt, J.H. & Nalepa, C.A. (Eds.). Boulder, Colorado: Westview Press.
- Tallamy, D.W. (2001). Evolution of exclusive paternal care in arthropods. *Annual review of entomology*, 46(1), 139–165.
- Tallamy, D.W. & Wood, T.K. (1986). Convergence patterns in subsocial insects. *Annual review of entomology*, 31(1), 369–390.
- Trumbo, S.T. (2012). Patterns of parental care in invertebrates. In *The evolution of parental care*: 81–100. Royle, N.J., Smiseth, P.T. & Kölliker, M. (Eds.). Oxford, UK: Oxford University Press.
- von Lengerken, H. (1939). Die Brutfürsorge- und Brutpflegeinstinkte der Käfer. *Akademische Verlagsgesellschaft MBH*, Leipzig.
- Wagner, D.L., Grames, E.M., Forister, M.L., Berenbaum, M.R., & Stopak, D. (2021). Insect decline in the Anthropocene: Death by a thousand cuts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(2), e2023989118.
- Wilson, E.O. (2000). *Sociobiology: The new synthesis*. Cambridge (USA): The Belknap Press of Harvard University Press.
- Wong, J.W.Y., Meunier, J., & Kölliker, M. (2013). The evolution of parental care in insects: the roles of ecology, life history and the social environment. *Ecological Entomology*, 38(2), 123–137.
- Zanchi, C., Troussard, J.P., Moreau, J., & Moret, Y., (2012). Relationship between maternal transfer of immunity and mother fecundity in an insect. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1741), 3223–3230.



Registry number:

DEENK/180/2023.PL

Subject:

PhD Publication List

Candidate: Johanna Lévai-Kiss

Doctoral School: Pál Juhász-Nagy Doctoral School of Biology and Environmental Sciences

MTMT ID: 10057375

List of publications related to the dissertation

Foreign language scientific articles in international journals (3)

1. **Kiss, J.**, Rosa, M. E., Rácz, R., Kosztolányi, A., Barta, Z.: Behavioural repertoire and the effect of male removal in a geotrupid beetle with parental care.
J. Zool. [Epub ahead of print], 1-12, 2023. ISSN: 0952-8369.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jzo.13069>
IF: 2.394 (2021)
2. **Kiss, J.**, Németh, Z., Kosztolányi, A., Barta, Z.: Differential movement and activity patterns of sexes in a biparental beetle during the reproductive season.
Ecol. Entomol. 45 (6), 1504-1508, 2020. ISSN: 0307-6946.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/een.12920>
IF: 2.465
3. **Kiss, J.**, Rádai, Z., Rosa, M. E., Kosztolányi, A., Barta, Z.: Seasonal changes in immune response and reproductive investment in a biparental beetle.
J. Insect Physiol. 121 (1), 1-9, 2020. ISSN: 0022-1910.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.104000>
IF: 2.354

List of other publications

Foreign language scientific articles in international journals (5)

4. Rádai, Z., **Kiss, J.**, Nagy, N. A., Somogyi, A. Á., Fülöp, A., Tóth, Z., Alexáné Babits, M., **Németh, Z.**: State and physiology behind personality in arthropods: a review.
Behav. Ecol. Sociobiol. 76, 1-20, 2022. ISSN: 0340-5443.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00265-022-03259-6>
IF: 2.944 (2021)





5. Nagy, N. A., Németh, Z., Juhász, E., Pólska, S., Rácz, R., **Kiss, J.**, Kosztolányi, A., Barta, Z.:
Intocin, a potential modulator of reproductive behaviours in a biparental beetle, *Lethrus apterus*.
J. Insect Physiol. 132, 1-9, 2021. ISSN: 0022-1910.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2021.104253>
IF: 2.608
6. Rádai, Z., **Kiss, J.**, Nagy, N. A.: Taxonomic bias in AMP prediction of invertebrate peptides.
Sci. Rep. 11, 1-10, 2021. EISSN: 2045-2322.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-97415-z>
IF: 4.996
7. Rádai, Z., **Kiss, J.**, Babczyńska, A., Kardos, G., Báthori, F., Samu, F., Barta, Z.: Consequences of rapid development owing to cohort splitting: just how costly is it to hurry?
J. Exp. Biol. 223 (6), 1-15, 2020. ISSN: 0022-0949.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.219659>
IF: 3.312
8. Rosa, M. E., **Kiss, J.**, Barta, Z., Kosztolányi, A.: Size-dependent investment in tusk length, testis size and sperm length in a biparental geotrupid beetle.
J. Zool. 309 (2), 106-113, 2019. ISSN: 0952-8369.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jzo.12704>
IF: 1.724

Total IF of journals (all publications): 22,797

Total IF of journals (publications related to the dissertation): 7,213

The Candidate's publication data submitted to the iDEa Tudóstér have been validated by DEENK on the basis of the Journal Citation Report (Impact Factor) database.

30 May, 2023

