

# DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

MAGYAR AGRÁR ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM  
KAPOSVÁRI CAMPUS

A doktori iskola vezetője

PROF. DR SZABÓ ANDRÁS

az MTA doktora

Témavezető

PROF. DR ALTBÄCKER VILMOS

az MTA doktora

Társtémavezető

PROF. DR ZSOLNAI ATTILA

az MTA doktora

A DOMESZTIKÁCIÓ ANYAI SZAPORODÁSI VISELKEDÉSRE  
KIFEJTETT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA NYÚL FAJBAN

Készítette

BENEDEK ILDIKÓ

KAPOSVÁR

2022

## 1.A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉS

Emlősöknél a fészkek megépítése sok esetben pontos viselkedési sorrend szerint történik meg. Így van ez az üregi nyúlnál (*Oryctolagus cuniculus*) is, ahol az anyai gondoskodás magába foglalja az üreg ásását és a fészkek megépítését. Az anyanyulak részéről ez a bonyolult fészkeképzési folyamat maga az anyai gondoskodás, amely a fialást megelőzően jelent nagy befektetést. Ennek a csúszása, késleltetése potenciálisan hathat az anyák reprodukciós sikerére.

Az üregi nyúlnál a fészkekperiódus alatt a teljes alomra vonatkoztatott mortalitási ráta magas értéket mutat (40%), bár a pusztulás okainak 75%-a megmagyarázatlan maradt. Eddig kevés információnk van arról, hogy miként befolyásolja a szopós kori elhullást a fészkeképzítő viselkedés. Ezért a fészkek megépítésének időbeni csúszása természetes körülmények között egy lehetséges magyarázat az üregi nyúlnál lévő születéskori mortalitásra. A fészkeképzési viselkedés tekintetében különbség található a nyúlanyák között, mely jól ismétélhető tulajdonság, bár az üregi nyúlról kevés információnk van a fészkeképzést befolyásoló hatások tekintetében (időzítés, fészkekminőség). Ilyen tényező a tapasztalat, a genetikai háttér, a szociális csoport mérete, az egyed szociális rangsorban elfoglalt helye, a konkurens fialások száma, a hormonális hatások, a stressz. Már leírták, hogy a nagyobb szociális stressz eredményezhet késői fészkeképzést, melynek következménye a gyengébb fészkekminőség és a nagyobb fiókamortalitás.

Célkitűzéseim:

Mivel a fészkeképzés lépéseit szigorúan meghatározott hormonális változások előzik meg, a hatótényezők közül szerettük volna a hormonális befolyás genetikai hátterét jobban megismerni. A progeszteron-és a prolaktinreceptor-génben (PGR, PRLR) lévő polimorfizmusok befolyásolják-

e a fészeképítő viselkedés időzítését és a fészek minőségét, és ha igen, akkor ennek mekkora a genetikavariancia-hányada.

A stressz (kortizol) hatását is szeretnénk volna tisztábban látni, vajon képes-e, és ha igen, milyen mértékben, változtatni a vemhes anyanyúl hormonszintjein (progeszteronhormon), és ez befolyással van-e a fészekanyag behordására, ezáltal befolyásolva a fiókák számát, mortalitását.

A ragadozók elkerülése érdekében minden apró jelre megugró vadnyúllal szemben a házasított nyúl meglehetősen nyugodt természetű. A nem régóta zajló házasításuk során elsősorban a viselkedésük változott meg, köszönhetően a genetikai állományukban bekövetkezett rengeteg apró változásnak, mely eredményeként a vadon élő nyúlpopulációkban is jelen lévő, ott ritkának számító változatok váltak náluk gyakorivá. Az üregi nyúl rendelkezve a teljes viselkedésspektrummal, kiváló alany viselkedésvizsgálatokra.

Első lépésként meg szeretnénk volna nézni, hogy a nyulak sajátos viselkedési reakciói azonosíthatók-e bizonyos helyzetekben, vagy inkább kontextusfüggőek lehetnek.

Továbbá tisztázni szeretnénk volna, hogy a személyiség (új táplálék – új aréna tesztel mérve) hogyan befolyásolja a nyúl reprodukív tulajdonságait, illetve az anya személyisége befolyásolja-e az ivadékok viselkedését.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

Az üregi nyulakon (*Oryctolagus cuniculus*) végzett vizsgálatokat a Kaposvári Egyetem Állatkísérleti Etikai Bizottsága hagyta jóvá (engedély száma: MÁB / 2-2 / 2019).

Kísérleti állatok: A vizsgálatokat 30 (PRLR-gén vizsgálatánál 40, a stressz hatása az ivadékok ivareloszlására vizsgálatnál 15), 10-12 hónapos tenyészerett üregi nyúlra végeztük, melyeknek az első fialását hasonlítottuk össze. A stressz hatása az ivadékok ivareloszlására vizsgálatnál 15 anya első ivadékainak (n=76) ivarát néztük meg, nemüket 60 napos korukban határoztuk meg.

Elhelyezés: Az istállóban a világítási periódus 16 óra ( $15,4 \pm 1,6$  óra) megvilágítás volt, az ablakokon bejutó fényen felül a mesterséges megvilágítást időzítővel ellátott lámpákkal biztosítottuk. Az állatokat egyedileg, elletőládával (40\*25\*31 cm) ellátott ketrecekben helyeztük el, melyek mérete (60\*60\*45 cm) az érvényben lévő jogszabályoknak megfelel. A ketrecek ponthegesztett huzalrácsból készültek, kézi feltöltésű önetetőkkel, szénarácscsal és alattuk sínen mozgó horganyzott acéllemezből készült trágyatárolóval rendelkeztek. A ketrecek két sorban voltak elhelyezve az istállóban.

Takarmányozás: A nyulak számára kereskedelmi forgalomban lévő nyúltakarmányt *ad libitum* (DE: 10,6 MJ/kg, nyersfehérje: 16,3%, nyerszsír: 3,8%, nyersrost: 17,7%), szénát (100 g/nap) és vizet biztosítottunk, kézi feltöltésű csepegtetési önitatók segítségével.

### 2.1. A fészeképítés ütemének vizsgálata

A fészeképítés során a fűgyűjtés viselkedésének vizsgálatához a szokásos szénán felül (100g/nap), fészekanyagként száraz fűvet biztosítottunk *ad libitum* 6 nappal a várható fialást megelőzően (a 25. naptól). Rögzítettük a

fészeképítés elemeit (kivéve az ásás folyamatát, melyet ponthegeesztett ketrecekben nem tudtunk megfelelően megfigyelni). Feljegyeztük 12 órás periódusokban, hogy mikor kezd el a fű gyűjtését a vemhes nyúl, továbbá felvételeztük a fészek építését. A fialás napjához közeledve két-három óránként ellenőriztük az elletőládákat, a fialást követően az elletőláda bejáratát egy tolóajtóval lezártuk, majd egy felső ajtón keresztül vettük ki és rögzítettük az élő és halva született fiókák számát, továbbá egyesével lemértük a születési súlyukat.

## 2.2. Fészek minősítése

Miután a fiókák elérték a 21 napos kort, a fészket eltávolítottuk az elletőládából. A vizelettől még nedves fészket először megszáritottuk. Száradás után lemértük a teljes fészek tömegét, majd összekevertük a fű- és szőrszálakat egyenletesen, úgy, hogy egy homogén elegyet kapjunk, ebből 10 mintát vettünk (egy minta megközelítőleg 1-1,5 g). Minden mintát kétfelé válogattuk szőr- és szénaszálanként, majd lemértük a súlyukat Sartorius mérlegen, két tizedesig grammnyi pontossággal. Így megkaptuk a 10 minta széna- és a szőrtömegének az arányát, majd ennek segítségével megbecsülhettük a teljes fészek szőr-, illetve szénamennyiségét.

## 2.3. Hormon meghatározása bélsárból

A progeszteron és a kortizol hormon szintjeit bomlástermékeik (GCM) alapján bélsárból határoztuk meg. A bélsármintákat 24 óránként (este 20:00 órakor) gyűjtöttük a vemhesség 28. napjától a fialás utáni napig. A stressz hatása az ivadékok ivareloszlására vizsgálat esetében pedig természetes pázás után 24 órával gyűjtöttük a bélsármintákat. A ketrecek alatti tálcákba helyezett háló segítségével megakadályoztuk a bélsár vizelettel való szennyeződését. A mintákat extrakcióig  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A hormonmennyiség meghatározását

az Állatorvostudományi Egyetem Endokrinológiai Laboratóriumában végezték.

#### 2.4. A progeszteronreceptor gén (PGR) szekvenálása

A DNS-kivonást szőrmintából végeztük. A szőrhagymákat levágva 5%-os Chelex gyanta segítségével. A genomiális DNS PGR gén promóter régiójából egy 558 bp hosszú szakaszt sokszoroztunk fel már leírt primerekkel (primer szekvenciák: PGR-F 5'GAAGCAGGTCATGTCGATTGGAG3' és PGR-R 5'-UTR 5'CGCCTCTGGTGCCAAGTCTC3'). A kondíciók a következők voltak: 95°C 10 perc, majd 35 ciklus (95°C 30 másodpercig, 66°C 60 másodpercig, 72°C 90 másodpercig), végül 15 perc 72°C-on. A reakcióelegy végtérfogata 20 µl, mely a következő alkotókat tartalmazta: 2,5 µl genomiális DNS-oldat, 10 µl 2x Platinum Superfi MasterMix, 5 µl 5x Enhancer, 1,25-1,25 µl 10 µM-os PGR-F és PGR-R-primerek. Az így kapott 558 bp hosszúságú terméken szilikamembrános tisztítást követően szekvenáló reakciót végeztünk BigDye Terminátor 3.1 szekvenáló kit használatával. A szekvenáló reakció hőmérsékletprofilja a következő: 96°C 3 perc, 96°C 10 másodperc, 55°C 20 másodperc, 60°C 1 perc 15 másodperc, majd 4°C. A reakcióelegy végtérfogata 10 µl, összetétele 0,8-2 µl minta, 1,4 µl BigDye, M-13 szekvenáló primer, desztillált víz. Az így kapott termék bázissorendjének meghatározását ABI 3100 genetikai analizátoron végeztük. A 30 anya PGR génjének szekvenciájában található pontmutációkat a génbanki szekvenciához (X06623.1) való illesztéssel azonosítottuk. Az illesztést Clustal Omega program segítségével végeztük el.

#### 2.5. A prolaktinreceptor-gén (PRLR) szekvenálása

DNS-kivonást szőrmintából végeztük a PGR-gén szakaszhoz hasonlóan. A sokszorosításhoz szükséges primereket a Primer3+ program segítségével

terveztük (Primer szekvenciák: 5' ATAGCTCCCTGAGGCTTGGT 3' és 5' TGGGACGTG GAGATCCATTG 3'). A kondíciók a következők voltak: 95°C 10 perc, majd 35 ciklus (94°C 30 másodpercig, 55°C 60 másodpercig, 72°C 90 másodpercig), végül 15 perc 72°C-on. A reakcióelegy végtérfogata 20µl, mely a következő alkotókat tartalmazta: 2,5 µl genomiális DNS oldat, 10 µl 2x Platinum Superfi MasterMix, 5 µl 5x Enhancer, 1,25-1,25 µl 10µM-os PRLR-F- és PRLR-R-primerek. Az így kapott 1210 bp hosszúságú terméket szilikamembrános tisztítást követően PGR-génszakaszhoz hasonlóan szekvenáltuk. A 40 anya prolaktin receptor génjének szekvenciáját génbanki szekvencia (NC\_013679.1) megfelelő szakaszához illesztettük a Clustal Omega program segítségével a pontmutációk azonosításának céljából. A promóterszakaszban (1210 bp) találtunk egy mikroszatellit, melynek szekvenciája: CTCCTCCTCCTCCTC (forward irányból), erre Primer3+ program segítségével terveztük meg a primereket. A primerek szekvenciája a következő: forward primer 5'TGTTTGGACCACTGACCCTT3', a reverz primer 5'GAGAGCCTCGGTGTCAAATT3'. A reakcióelegy végtérfogata 10 µl, mely a következő alkotókat tartalmazta: 1 µl genomiális DNS-oldat (55 ng / µl), 5µl 2x Platinum Superfi MasterMix, 2 µl 5x Enhancer, 0,5 - 0,5 µl 10 µM-os forward-és reverz primerek, 1 µl desztillált víz. A hőmérséklet-kondíciók a következők: 95°C 15 perc, majd 35 ciklus (95°C 30 másodpercig, 58°C 30 másodpercig, 72°C 45 másodpercig), végül 15 perc 72°C-on. A DNS-amplifikációhoz NED-fluorescens végjelöléssel ellátott forward primert használtunk. A fragmens hosszpolimorfizmus-vizsgálathoz LIZ-500 méretstandardet végeztük ABI 3500-as genetikai analizátoron, az eredmények kiértékelését pedig a GeneMapper 4.1. program segítségével végeztük.

## 2.6. Termelési tulajdonságok mérése

A fialás után a kölyköket kivettük a fészekből, rögzítettük a fiókák számát, a születéskori alomsúlyt és a 21 napos alomsúlyt is. A méréseket Sartorius mérlegen végeztük 0,1 gramm pontossággal. Az anyák tejtermelését a laktáció első 21 napján naponta állapítottuk meg. A fiókákat a szoptatás előtt és után mértük, így a két súly közötti különbség alapján állapítottuk meg a tej mennyiségét. Kiszámoltuk a 21 napos korig fogyasztott teljes tej mennyiségét is.

## 2.7. Viselkedésteszt

A viselkedésteszteket először 60 napos korban végeztük el ( $N = 86$ ), majd a tesztek ismétlését 10 hónappal később, egy éves korukban valósítottuk meg. Az elemszámokat tekintve először 24 egyedet teszteltünk, melyekből később tenyészállat lett ( $N = 24$ , kilenc bak és tizenöt nőstény), majd az ivadékaikat ( $N = 62$ ).

A felfedező viselkedés mérésére új tárgy tesztet új arénában végeztünk. A biológiai relevancia figyelembe vétele okán az új tárgyat új élelmiszer képviselte. A vizsgált nyulat az istálló üresen álló ketrecsorába helyeztük át, elválasztva társaitól, a ketrec méretben sajátjával azonos, tiszta és üres volt. Három perces habituációt követően egy korábról nem ismert táplálékot biztosítottunk számára a ketrec első harmadába, a rácstól körülbelül 10 cm-re helyezve. Az első tesztben (mind a 86 állat esetében), az új élelmiszer egy alm szelet volt (egy egész alma negyede), a tenyészállományon végzett ismétlés során pedig egy körülbelül 7 cm-es sárgarépa. A teszt alatt minden egyed új almát, illetve új sárgarépát kapott. A vizsgálat öt percig tartott, mely alatt mértük a látenciát, vagyis azt az időt, ami addig telik el, míg az állat először megérinti az új élelmiszert, továbbá mértük a viselkedés frekvenciáját (az öt perc alatt hányszor érinti még meg az új élelmiszert). Ha azonban



elkezdte fogyasztani az almát/sárgarépát, rögzítettük ennek a tényét, és a vizsgálatot leállítottuk.

## 2.8 Az ivadékgeneráció viselkedését befolyásoló faktorok vizsgálata

A viselkedésvizsgálatban résztvevő ivadékokat (N = 62) egyedileg jelöltük microchip segítségével, továbbá nemük is meghatározásra került. A viselkedéstesztet 60 napos korban végeztük el, a testtömeg mérését pedig 5 hónapos korukban.

## 2.9. Statisztikai feldolgozás (a fészeképítés genetikai hátterének vizsgálata)

A megfigyelt heterozigotitást ( $H_o$ ), az elvárt heterozigotitást ( $H_e$ ), az effektív allélszám ( $N_e$ ) értékének meghatározását és a Hardy–Weinberg-egyensúly tesztelését, GENALEX program 6.5-ös verziójával végeztük. A polimorfizmus információtartalmát a CERVUS 3.0.7 szoftver segítségével számoltuk ki. A kapcsoltsági egyenlőtlenség értékeket DNAsp 5.10 program segítségével, a szénahordási viselkedés, a széna súlya és a PGR polimorfizmusai közötti összefüggést SPSS 17.0 szoftverrel számoltuk ki. Ennek során általánosított lineáris modellt használtunk, ahol a függő változók a szénabehordás kezdetének időpontja, a fészekben lévő széna súlya, a fix faktorok a SNP2464, SNP2682 és SNP 2866 genotípusok, a kovariánsok a fialás napi progeszteron és kortizol szintek voltak. Éta négyzetet számoltunk, annak érdekében, hogy meg tudjuk határozni a faktorok hatásnagyságát. Kétlépéses klaszteranalízist használtunk az anyák csoportokba rendezéséhez a széna behordásának kezdeti időpontja szerint, továbbá Chi-négyzet-tesztet a csoportok különbségének meghatározására, melyet szintén SPSS 17.0 szoftverrel végeztünk. Az SNP 2464G>A öröklődhetőségét a következő egyenlet szerint számoltuk:  $h^2=V_A/V_P$  ahol,  $V_A$  az additív variancia,  $V_P$  fenotípusos variancia. A  $V_A$ -t a  $V_A = 2 p q \alpha^2$  egyenlettel számoltuk, ahol  $\alpha$

=  $\mathbf{a} + \mathbf{d}(\mathbf{q} - \mathbf{p})$ , ahol  $\mathbf{p}$  és  $\mathbf{q}$  a két allél gyakorisága,  $\mathbf{a}$  a homozigóta genotípusos érték, a  $\mathbf{d}$  pedig a heterozigóta genotípusos érték.

2.10. Statisztikai feldolgozás (a fialás általi fiziológiás stressz hatása a fészeképítésre és az ivadékokra)

A vemhesség és a fialás napján mért kortizolszintek közötti különbség és a fialás napján mért progeszteronszint közötti összefüggéshez lineáris regressziót alkalmaztunk. A vemhesség alatti és a fialás napi kortizolszint-különbség alapján klaszteranalízissel (k-közepű klaszter) képeztünk csoportokat. A két csoport között a fialás napján és a vemhesség alatt mért progeszteronértékek összehasonlítására Student féle t-tesztet használtunk. Szintén ezzel a teszttel hasonlítottuk össze a két csoport között a széna behordásának kezdeti időpontja és az összegyűjtött széna és szőr minőségét, a fiókák számát. A szórtépés megkezdésének időpontjához Kruskal–Wallis-tesztet használtunk. A csoportokénti fiókamortalitást Chi-négyzet-teszttel hasonlítottuk össze. Az adatok normalitását Shapiro–Wilk-teszttel ellenőriztük, homogenitásukat pedig Levene-teszttel igazoltuk. A csoportokénti különbségeket  $P < 0,05$  szinten fogadtuk el szignifikánsnak. A statisztikai elemzéseket az SPSS 17.0 szoftverrel végeztük.

2.11. Statisztikai feldolgozás (a stressz hatása az ivadékok ivareloszlására)

A minták homogenitását és normál eloszlását Levene teszttel és Shapiro Wilk teszttel vizsgáltuk és igazoltuk. Az anyákat két csoportba soroltuk k-közepű klaszteranalízissel. A két csoport közötti különbségek szignifikanciáját az alomszámban és az ivarányokban t-próbával becsültük meg. Lineáris regressziót számoltunk a bélsárban lévő kortizol bomlástermék mennyisége és a nőivar aránya, valamint a progeszteron értékek és a nőivar aránya között.

Pearson korrelációt számoltunk a progeszteron értékek és az FCM értékek között. A statisztikai elemzéseket az SPSS 17.0 szoftverrel végeztük.

2.12. Statisztikai feldolgozás (a felfedező viselkedésben lévő különbségek kapcsolata a reprodukciós sikerrel)

Spearman-korrelációt alkalmaztunk az új tárgy-tesztben kapott értékekre, hogy megbecsüljük a szülőállomány reprodukciós tulajdonságai (alomméret, tejtermelés, újszülött- és 21 napos súly) és az újélelmiszer-teszt eredményei (látencia, frekvencia) közötti, illetve az ivadékok teszteredményei (szintén látencia, frekvencia) közötti kapcsolatot. A tesztek ismételhetőségét csoporton belüli korrelációs együttható (ICC) alapján becsültük meg. Az anya, az ivar, az ivadékok súlya hatását a közelítések számára, általánosított lineáris vegyes modellel elemeztük (GLMM). A GLMM-modell tartalmazta az anyát, mint random faktort, az ivart és a súlyt, mint fix faktorokat. A látencia esetében az előbbi faktorok hatását túlélés-analízissel Cox proportional hazard regressziós modellel végeztük. A modellben covariánsként az ivar (kategórikus változó), tömeg és az anyák átlagos látenciája szerepelt. Az átlagos látencia kategórikus változóként került megadásra, mely során klaszteranalízissel (k-közepű klaszterelemzés) két klaszterre osztottuk fel az anyákat (neofil: 18 egyed, látencia: 77,06 s, és neofób: 44 egyed, látencia: 215,59 s). A statisztikai elemzésekhez az SPSS 17.0 szoftvert és a SAS programokat használtuk.

### 3.EREDMÉNYEK

#### 3.1. PGR-génpolimorfizmus vizsgálata

A szekvenálás eredményeként kapott szakaszok alapján beazonosítottuk a promóter szakaszban 2464G>A helyen található pontmutációt (Peiró és mtsai. 2008), továbbá szintén a promóter régióban, a 2682T>C helyen azonosítottunk egy eddig még le nem írt pontmutációt. A gén exon-1 szakaszában szintén beazonosítottuk a 2866G>T helyen már leírt pontmutációt. Az 1. táblázatban látható a megfigyelt genotípusok eloszlása, a megfigyelt heterozigotizás (Ho), az elvárt heterozigotizás (He), az effektív allélméret (Ne) és a PIC-érték. A genotípusok eloszlásának vizsgálata megmutatja, hogy azok a Hardy–Weinberg-egyensúlyi állapottal megegyezők mindhárom SNP esetében ( $P > 0,05$ ). A PIC-értékeken látható, hogy a nyúlállomány közepes polimorfizmust mutat.

1. táblázat: Genotípus-eloszlás és géndiverzitás alakulása a PGR-génben található 3 SNP-nél.

SNP	Megfigyelt genotípus						Ho	uHe	HWE		Ne	PIC
									$\chi^2$	P		
2464G>A	GG	19	GA	8	AA	1	0,286	0,299	0,019	0,890	1,415	0,250
2682T>C	TT	17	TC	11	CC	0	0,393	0,321	1,673	0,196	1,461	0,266
2866G>T	GG	13	GT	14	TT	1	0,500	0,416	1,418	0,234	1,690	0,325

Ho: megfigyelt heterozigotizás, uHe: korigált (unbiased) elvárt heterozigotizás, Ne: effektív allélméret, PIC: polimorfizmus információ tartalom,  $\chi^2$ : Chi négyzet érték, HWE: a Hardy-Weinberg egyensúly, P: szignifikanciaszint

A promóterrégióban és az exon 1-en lévő SNP-k közötti kapcsoltsági viszonyok az 2. táblázatban láthatóak. Eredményeink alapján a promóterrégióban található két SNP (2464G>A és 2682T>C) és az exon 1-ben

lévő SNP-ből alkotott párok egyike között sincs szignifikáns kapcsoltság (függetlenül öröklődnek).

A széna behordásának kezdési időpontjára több tényező is jelentős hatással van, ilyen a két hormon (progeszteron és kortizol) és a PGR-ben talált 2464G>A SNP is (3. táblázat). A másik két SNP hatása, illetve az interakciók hatásai sem bizonyultak szignifikánsnak. A behordott széna mennyiségét tekintve jelentős hatást az SNP 2-3 interakciójánál találtunk, azonban az SNP-k hatása nem bizonyult szignifikánsnak.

2. táblázat: Allél- és haplotípusfrekvencia-eloszlás és a kapcsoltsági egyenlőtlenség a vizsgált SNP-kenél.

	Allélfrekvencia		Haplotípus- frekvencia		D'	r	$\chi^2$	P
SNP1-2	G	0,82	GT	0,68	0,018	0,016	0,029	NS
	A	0,18	GC	0,16				
	T	0,80	AT	0,13				
	C	0,20	AC	0,03				
SNP1-3	T	0,80	TT	0,57	-0,632	-0,181	3,651	NS
	C	0,20	TG	0,24				
	T	0,71	CT	0,15				
	G	0,29	CG	0,04				
SNP2-3	G	0,82	GT	0,55	-0,239	-0,077	0,662	NS
	A	0,18	GG	0,27				
	T	0,71	AT	0,16				
	G	0,29	AG	0,02				

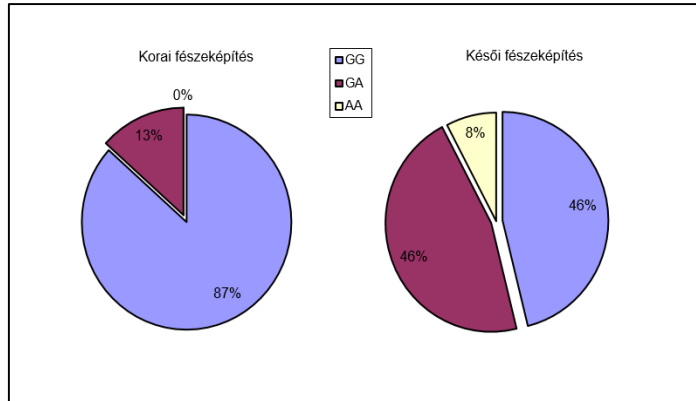
SNP1-2464G>A, SNP2-2682T>C, SNP3-2866G>T, D': kapcsoltsági egyensúlytól való távolság mértéke, r: korrelációs koefficiens,  $\chi^2$ : Chi négyzet érték, P: szignifikanciaszint

3. táblázat: A szénabehordási viselkedés kezdeti időpontjának kapcsolata a PGR-ben található polimorfizmusokkal. Általánosított lineáris modell (GLM), a kortizol és a progeszteron szintek kovariánsként szerepeltek. A vastaggal kiemelt értékek a  $p < 0,05$  szinten szignifikánsak.

	df	Szénabehordás időpontja			
		MS	F	P	Parciális éta négyzet
Korrektációs tényező	1			<b>0,018</b>	<b>0,288</b>
Progeszteron	1	<b>9,873</b>	<b>6,203</b>	<b>0,023</b>	<b>0,267</b>
Kortizol	1	<b>8,298</b>	<b>5,214</b>	<b>0,036</b>	<b>0,235</b>
SNP1 (2464G>A)	2	<b>7,085</b>	<b>4,452</b>	<b>0,028</b>	<b>0,344</b>
SNP2 (2682T>C)	1	0,299	0,188	0,670	0,011
SNP3 (2866G>T)	2	1,595	1,002	0,388	0,105
SNP1 * SNP2	1	0,129	0,081	0,780	0,005
SNP1 * SNP3	1	0,035	0,022	0,883	0,001
SNP2 * SNP3	1	0,333	0,209	0,653	0,012

df: szabadságfok, MS: korrigált szórásnégyzet, F: F érték, P: szignifikanciaszint

A klaszteranalízis eredményeként az anyákat a szénabehordás megkezdésének időpontja szerint két klaszterbe soroltuk be. A korai csoportba (behordás időpontja  $3,6 \pm 0,78$  nap a fialást megelőzően) 15 egyed, míg a kései csoportba (behordás időpontja  $0,88 \pm 0,54$  nap a fialást megelőzően) pedig 13 egyed került besorolásra. A két csoportban a 2464G>A SNP genotípus-eloszlását a 1. ábra mutatja be. A korai csoport 87%-ban a GG genotípust, a heterozigóta-alléleket (GA) pedig 13%-ban tartalmazza, AA genotípust pedig egyáltalán nem tartalmaz. A kései csoportban a GG-arány jelentősen csökken, míg a GA-arány szignifikánsan megnő és az AA genotípus is ebben a csoportban található meg. (Linear by linear association  $\chi^2 = 5,184$ , df = 1, p = 0,023) A GG genotípus esetében a szénabehordás megkezdésének időpontja  $2,78 \pm 0,35$  nap, a GA genotípusnál  $1,5 \pm 0,36$  nap és az AA genotípusnál pedig 0,5 nap volt.



1. ábra: A 2464G >A SNP genotípus eloszlása a korai és a késői fészeképzést mutató anyák csoportjaiban.

A 2464G>A pontmutáció esetében a kalkulált additív genetikai variancia ( $V_a = 2pq \cdot \alpha^2$ ,  $\alpha = 0,909$ ). A genetikai variancia értéke  $V_a = 0,2444$  volt. A  $h^2 = V_a/V_p$  ( $V_p = 2,353$ ) alapján a PGR 2464G>A pontmutáció örökölhetősége  $h^2_{PRG2464} = 0,10$ .

### 3.2. PRLR-gén polimorfizmusvizsgálata

A PRLR-gén promóterrégiójának szekvenálása során négy pontmutációt találtunk, melyek elhelyezkedése a következő: SNP1-407G>A, SNP2-496G>C, SNP3-926T> és SNP4-937A>C. A pontmutációkon felül az 574-es helyen egy mikroszatellit is detektáltunk. A 8. táblázatban látható a megfigyelt genotípusok eloszlása, megfigyelt heterozigotitás ( $H_o$ ), az elvárt heterozigotitás ( $H_e$ ), az effektív allélméret ( $N_e$ ) és a PIC-érték. A genotípusok eloszlásának vizsgálata megmutatja, hogy azok Hardy–Weinberg-egyensúlyi állapottal megegyezők a 293G>T és a 339G>A SNP-k esetében ( $P > 0,05$ ), míg a másik két SNP esetében nincsenek egyensúlyi állapotban (a heterozigóták teljes hiánya figyelhető meg). A PIC-értékeken látható, hogy a nyúlállomány közepes polimorfizmust mutat mindegyik pontmutációnál. (4. táblázat)

4. táblázat: Genotípus-eloszlás és géndiverzitás alakulása a PRLR-gén promóter szakaszában található négy SNP-nél.

SNP	Megfigyelt genotípus						H <sub>0</sub>	H <sub>e</sub>	HWE		N <sub>e</sub>	PIC
									$\chi^2$	P		
293G>T	GG	21	GT	15	TT	4	0,375	0,415	0,287	0,592	1,694	0,326
339G>A	GG	21	GA	15	AA	4	0,375	0,415	0,287	0,592	1,694	0,326
770G>C	GG	21	GC	0	CC	19	0,000	0,505	40,000	<0,001	1,995	0,374
869T>C	TT	28	TC	0	CC	12	0,000	0,425	40,000	<0,001	1,724	0,332

H<sub>0</sub>: megfigyelt heterozigotizáció,  $\chi^2$ : Chi négyzet érték, H<sub>e</sub>: elvárt heterozigotizáció, N<sub>e</sub>: effektív allélméret, PIC: polimorfizmus információ tartalom, HWE: a Hardy-Weinberg egyensúly, P: szignifikanciaszint

A 5. táblázatban az SNP-k közötti kapcsoltsági viszonyok láthatóak. Eredményeink alapján mind az öt SNP páros szignifikáns linkage disequilibriumot mutatott (kapcsoltan öröklődnek). Az állományban a négy SNP a következő négy genotípusra szegregálódott: GGGGGT, TTAACCC, GTAACCT, GTGACCC.



5. táblázat: Allél- és haplotípusfrekvencia-eloszlás és a kapcsoltsági egyenlőtlenség a vizsgált SNP-kenél.

	Allélfrekvencia		Haplotípusfrekvencia		D'	r	$\chi^2$	P
SNP1-2	G	0,713	GG	0,60625	0,228	1,000	40,000	<0,001
	T	0,288	GA	0,08125				
	G	0,713	TG	0,08125				
	A	0,288	TA	0,23125				
SNP1-3	G	0,713	GG	0,525	0,310	0,907	32,894	<0,001
	T	0,288	GC	0,1625				
	G	0,525	TG	0				
	C	0,475	TC	0,3125				
SNP1-4	G	0,713	GT	0,6125	0,233	0,745	22,185	<0,001
	T	0,288	GC	0,075				
	T	0,700	TT	0,0875				
	C	0,300	TC	0,225				
SNP2-3	G	0,713	GG	0,525	0,310	0,907	32,894	<0,001
	A	0,288	GC	0,1625				
	G	0,525	AG	0				
	C	0,475	AC	0,3125				
SNP2-4	G	0,713	GT	0,6125	0,233	0,745	22,185	<0,001
	A	0,288	GC	0,075				
	T	0,700	AT	0,0875				
	C	0,300	AC	0,225				
SNP3-4	G	0,525	GT	0,525	0,323	0,688	18,947	<0,001
	C	0,475	GC	0				
	T	0,700	CT	0,175				
	C	0,300	CC	0,3				

D': kapcsoltsági egyensúlytól való távolság mértéke, r: korrelációs koefficiens,  $\chi^2$ : Chi négyzet érték, P: szignifikanciaszint

A tejtermelésre több tényező is jelentős hatással van, ilyen a fiókaszám és a PRLR-ben talált mikroszatellit, valamint az SNP-k által alkotott genotípusok is (6. táblázat).

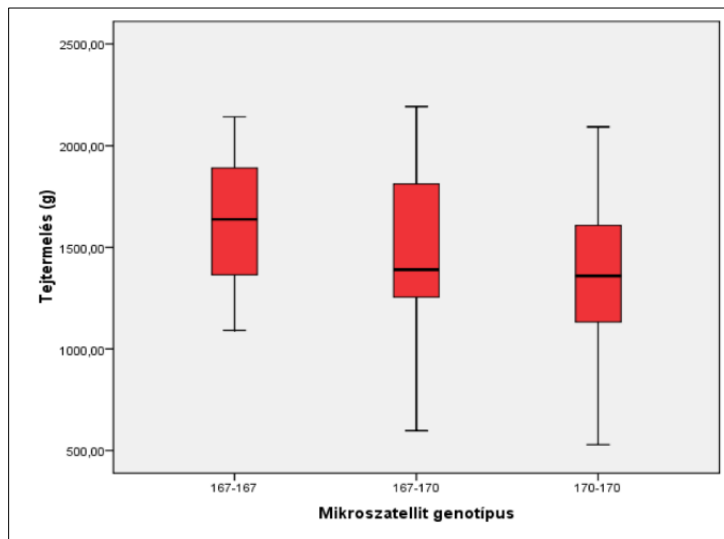
6. táblázat: A tejtermelés (21 napos összes tej mennyisége) kapcsolata a PRLR-ben található polimorfizmusokhoz (Általánosított lineáris modell (GLM), a fiókaszám kovariáns).

	df	Tejtermelés			
		MS	F	P	Parciális éta négyzet
Lineáris függvény jóságát mutató modell	7	603986,881	5,419	<b>0,000</b>	0,542
Korrektációs tényező	1	1659510,225	14,888	<b>0,001</b>	0,318
Fiókaszám	1	1239088,433	11,116	<b>0,002</b>	0,258
Genotípus	3	487348,278	4,372	<b>0,011</b>	0,291
MS574	2	758532,337	6,805	<b>0,003</b>	0,298
MS574*genotípus	1	2304,989	0,021	0,887	0,001
Hiba	32	111466,214			

df: szabadságfok, MS: korrigált szórásnégyzet, F: F érték, P: szignifikanciaszint

A genotípusok esetében a homozigóta formában lévő TTAACCCC genotípus magasabb tejtermelést ( $1564,7 \pm 444,7\text{g}$ ) mutat a másik három genotípushoz képest (GGGGGGTT  $1399,1 \pm 326,8\text{g}$ ; GTGACCTT  $1403,8 \pm 517,1\text{g}$ ; GTGACCCC  $1220,0 \pm 666,2\text{g}$ ). A mikroszatellit és az SNP-genotípusok interakciója nem bizonyult szignifikánsnak. Ha az elpusztult fészekaljú egyedeket kivesszük az analízisből, akkor az SNP-genotípusok hatása nem lesz statisztikailag igazolható ( $P = 0,071$ ), azonban a fiókaszám ( $P = 0,002$ ) és a mikroszatellit hatása szignifikáns marad ( $P = 0,025$ ). A tejtermelés alakulását a mikroszatellit genotípusoknak megfelelően a 2. ábra mutatja be. A rövid ismétlődés, 167 bázis hosszúságú fragmentum, magasabb tejtermelést

eredményezett ( $1623,8 \pm 525,1$ g), mint a hosszú ismétlődés (170 bázis,  $1300,4 \pm 458,6$ g), míg a heterozigóta forma (167/170) köztes értéket képviselt ( $1460,4 \pm 411,5$ g). A különbségek az elpusztult fészekaljú egyed kizárását követően is megmaradnak, mivel csak a hosszú ismétlődésű csoport értéke változik ( $1359,5 \pm 368,9$ g).



2. ábra: A tejtermelés alakulása az eltérő mikroszatellit-genotípust mutató anyák csoportjaiban. 167/167 és 170/170 a kétféle homozigóta genotípust, a 167/170 a heterozigóta genotípus fragmenthosszait jelöli.

A szőr tömege, melyet a fészekbe vittek az anyanyulak, nem mutatott szignifikáns összefüggést a PRLR-génben található polimorfizmusokkal (SNP-k és mikroszatellit) (7. táblázat). A szőr mennyisége az eltérő genotípusokban a következőképpen változott: TTAACCCC genotípus  $21,3 \pm 8,8$  g; GGGGGGTT  $20,8 \pm 12,1$  g; GTGACCTT  $16,21 \pm 7,7$  g; GTGACCCC  $15,9 \pm 8,0$  g. A mikroszatellit esetében a rövid ismétlődés a szőr mennyiségét nézve  $21,8 \pm 10,7$ g-ot adott átlagosan, a hosszú ismétlődés  $19,8 \pm 12,1$  g-ot, míg a heterozigóta-forma  $17,3 \pm 7,2$  g-ot jelentett.

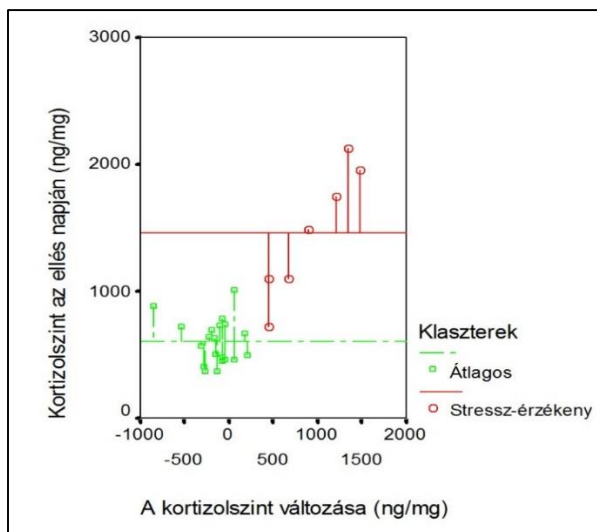
7. táblázat: A fészekben lévő szőr mennyiségének kapcsolata a PRLR-ben található polimorfizmusokkal. (Általánosított lineáris modell (GLM)).

	df	Szőrtömeg			
		MS	F	P	Parciális étanégyzet
Lineáris függvény jóságát mutató modell	6	60,758	0,520	0,789	0,086
Korrektív tényező	1	5289,150	45,564	0,001	0,578
Genotípus	3	92,605	0,793	0,507	0,067
MS574	2	63,261	0,541	0,587	0,032
MS574*genotípus	1	11,594	0,099	0,755	0,003
Hiba	33	116,850			

df: szabadságfok, MS: korrigált szórásnégyzet, F: F érték, P: szignifikanciaszint

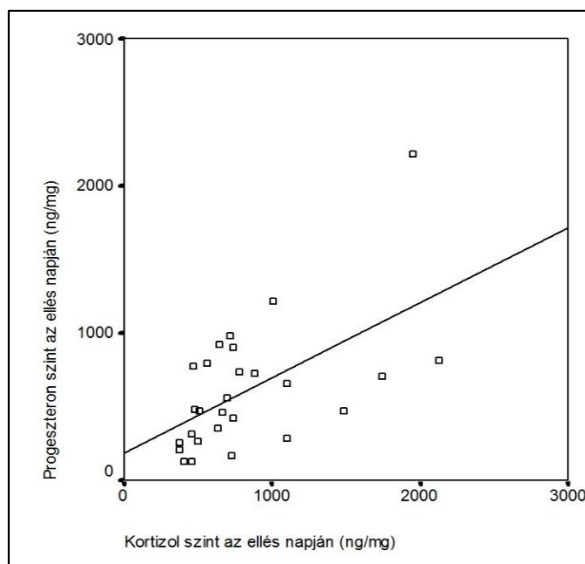
### 3.3. A stressz hatása a fészeképítő viselkedésre

A vemhesség utolsó három napjában történő kortizolszint emelkedése és az ellés napján mért kortizolszint között szignifikáns kapcsolat volt ( $R = 0,843$   $F = 61,617$   $df = 26$   $p = 0,001$ ). A vizsgált állomány átlagos elléskori kortizolszintje  $826,01 \pm 479,29$  ng/mg volt. A vemhesség alatti (3 nappal a fialást megelőzően) kortizolszint és a fialás napján mért kortizolszint közötti különbség alapján végzett klaszteranalízis két csoportra választja szét az állatokat. Hét egyednél (szenzitív csoport) nagy növekedés történt (növekedés mértékének átlaga:  $925,48 \pm 424,75$  ng/mg; átlagos elléskori kortizol szint  $1462,09 \pm 511,37$  ng/mg), míg a másik (átlagos) csoportban a kortizolszint csökkenést mutatott (növekedés mértékének átlaga:  $-152,09 \pm 236,55$  ng/mg), ez húsz egyedet jelentett (átlagos elléskori kortizol szint  $603,38 \pm 174,74$  ng/mg). A klaszteranalízis eredménye az 3.ábrán látható.



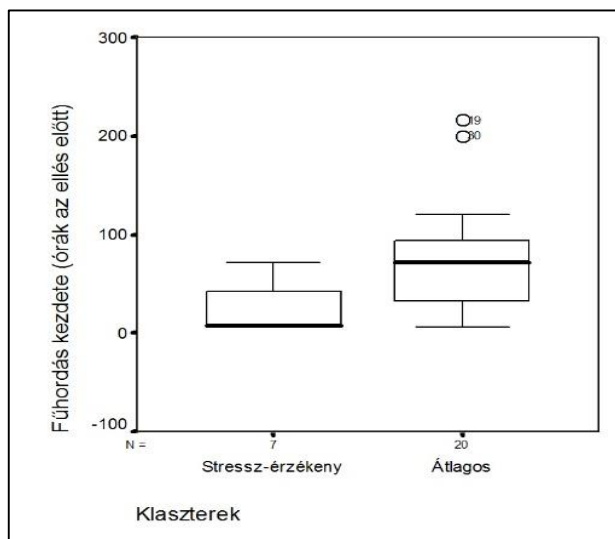
3. ábra: A fialás napjára emelkedett kortizolszint-változás alapján klaszteranalízissel képzett csoportok (stressz szenzitív/normál).

A fialás napján mért kortizol és progeszteron értékek az összes anyát tekintve közepes korrelációt mutattak. A lineáris regressziós modell szignifikáns volt ( $R = 0,567$ ,  $F = 11,871$   $p = 0,002$ ) (4. ábra).



4. ábra: A fialás napján mért kortizol- és progeszteronértékek összefüggése.

Feltételeztük, hogy az anya magasabb kortizolszintje későbbre módosítja a széna behordásának időpontját és módosítja a behordott széna és szőr mennyiségét. A szénabehordás megkezdésének időpontjában szignifikáns ( $t = -2,238$   $df = 25$   $p = 0,034$ ) különbséget találtunk, mely esetben a csoportátlagok  $26,14 \pm 31,39$  óra (szenzitív) és  $76,10 \pm 55,57$  óra (átlagos), ez az 5. ábrán látható.

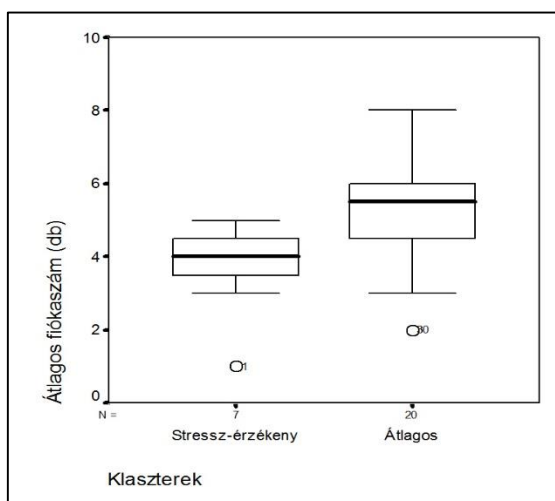


5. ábra: A stresszérzékenységre alapított csoportokban a szénabehordás időpontjában szignifikáns különbség van.

A széna mennyisége nem tért el szignifikánsan ( $t = -0,558$   $df = 25$   $p = 0,582$ ) a két csoportban (szenzitív:  $146,21 \pm 37,89$  g és normál:  $160,10 \pm 61,51$  g). A behordott szőr mennyisége (szenzitív:  $10,91 \pm 6,15$  g és normál:  $14,20 \pm 13,18$  g) nagyon hasonló volt a csoportok között ( $t = -0,631$   $df = 25$   $p = 0,534$ ).

A korábbi vizsgálatok alapján azt vártuk, hogy a kortizolszint és annak a változása összefügghet a fiókaszámmal. A fiókaszám átlagát tekintve szignifikáns különbséget kaptunk ( $t = -2,185$   $df = 25$   $p = 0,038$ ). A csoportok között a szenzitív csoportban kisebb volt a fiókaszám. A születéskori

mortalitás szignifikánsan ( $\text{Chi}^2 = 5,092$   $\text{df} = 1$   $p = 0,024$ ) magasabb volt a szenzitív csoportban a normál csoporthoz képest (6. ábra).



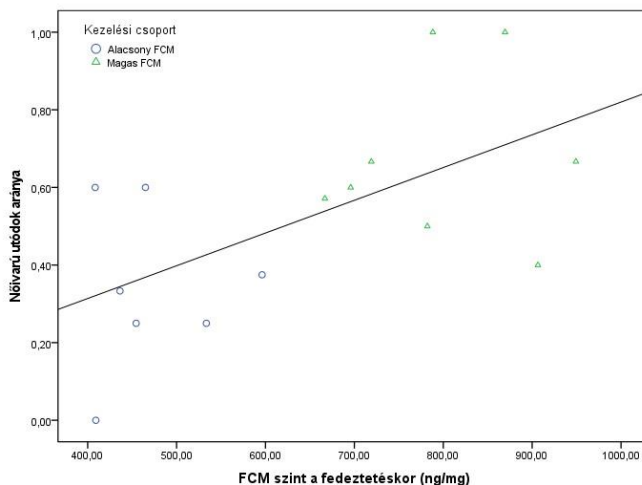
6. ábra: A stresszérzékenység alapján képzett csoportok és a fiókaszám/mortalitás között szignifikáns a kapcsolat.

Eredményeink alapján az üregi nyúlnál a vemhesség utolsó három napjában történő kortizolszint emelkedésből következtetni lehet arra, hogy milyen erős az egyed stresszválasza az ellésre, illetve mennyire stresszérzékeny az állat. Ennek pedig hatása van a vemhes állat progeszteron termelésére, melyet a fialás napján mért kortizol és progeszteron értékek közötti szignifikáns összefüggés támaszt alá.

#### 3.4. A stressz hatása az ivadékok ivareloszlására fordul elő

A vizsgálatban részt vevő tizenöt anyát két csoportba soroltuk, a párzás napján mért bélsár kortizol bomlástermék (faecal cortisol metabolite (FCM)) szintek alapján. Az alacsony FCM értékkel ( $471,94 \pm 69,3$ ) rendelkező csoport hét egyedből állt, a magas FCM értékkel ( $797,25 \pm 102,7$ ) rendelkező csoportot pedig nyolc egyed képviselte. Az átlagos alomméret nem különbözött szignifikánsan a két csoport között. A 76 ivadéknál a két ivar aránya egyenlő volt (38 hím és 38 nőstény). A fogamzás napján mért FCM értékek és az almok

nőstény ivadékainak aránya (nőivararány =  $0,001 \cdot \text{FCM} - 0,024$ , 7. ábra) közötti lineáris regresszió szignifikáns volt ( $F=6,997$ ;  $P=0,020$ ;  $r^2 = 0,350$ ). A nőstény egyedek aránya magasabb, a nagyobb kortizolválaszt mutató anyák almában.



7. ábra: A fedzetetést mérte FCM értékek és az almok nőivararánya közötti lineáris regresszió ( $F = 6,997$ ;  $P = 0,020$ ;  $r^2 = 0,350$ ).

A progeszteronszint hasonló regressziót mutatott a nőstény ivadékok arányával, mint az FCM szint. A két változó közötti lineáris regresszió (nőivararány =  $0,001 \cdot P + 0,086$ ) szignifikáns volt ( $F=7,884$ ,  $P=0,015$ ,  $r^2=0,378$ ). A bélsár progeszteron -és kortizol metabolitszintje mérsékelt, pozitív korrelációt mutatott (Pearson korreláció:  $r = 0,626$ ;  $P = 0,013$ ;  $N = 15$ ).

### 3.5. A felfedező viselkedés ismételhetősége

Az új táplálék-teszt ismételhetőségének átlaga  $2,3 \pm 2,3$  volt, az értékek 0 és 8 közötti tartományba estek. A felfedező viselkedés látenciájának az átlaga  $188,1 \pm 107,6$  volt. Az új táplálék-teszt új helyen jó ismételhetőséget mutatott. A két paraméterre nézett korrelációk közül (Spearman- és Intraclass- korrelációs



együttható) azonban csak az első érintés látenciája adott szignifikáns összefüggést, közepes korrelációs értékkel (8. táblázat).

8. táblázat: Az új-táplálék-teszt két paraméterének ismételtetősége

Teszt	N	Spearman-korreláció (r; p-érték)	Osztályon belüli korrelációs együttható		
			R	95% CI (alsó / felső határ)	p-érték
Az exploráció frekvenciája	24	0,239; 0,260	0,377	-0,440; 0,730	0,132
Az első érintés látenciája	24	<b>0,599; 0,002</b>	<b>0,615</b>	<b>0,110; 0,834</b>	<b>0,013</b>

N: elemszám, R: korrelációs együttható, CI: konfidencia intervallum, A vastagított értékek  $P < 0,05$  szinten szignifikánsak.

3.6. A felfedező viselkedés termelési mutatókkal való összefüggésének vizsgálata

Az alomméreték átlaga  $5,0 \pm 1,5$  (az értékek 2 és 8 között voltak), az anyák tejtermelésének átlaga  $1356,8 \pm 335,7$  g volt (az értékek 741,0 g és 2098,9 g között változtak). A születéskori alomsúly és a 21 napos alomsúly átlaga  $203,9 \pm 59,7$  g (az értékek 67,9 g és 294,9 g között változott) és  $960,8 \pm 227,9$  g voltak (az értékek 496,3 és 1353,8 között változtak). Az explorációs viselkedés alapján tesztelt anyáknál, azoknak, amelyeknek a viselkedéslátenciája alacsonyabb értékeket mutatott, tehát felfedezőbb egyedek voltak, magasabb tejtermelést és nagyobb születéskori és 21 napos alomsúlyt tudunk kimutatni, melynek adatait az 9. táblázat tartalmazza.

9. táblázat: Az új táplálék-teszt paraméterei és a szaporodási tulajdonságok közti összefüggés alakulása az üregi nyúl anyáknál.

Teszt	N	Spearman-korreláció (r), p-érték			
		alomméret	tejtermelés	születési tömeg	21 napos tömeg
Az exploráció frekvenciája	15	0,121; 0,667	0,051; 0,857	0,045; 0,872	-0,065; 0,817
Az első érintés látenciája	15	-0,472; 0,076	<b>-0,673; 0,006</b>	<b>-0,611; 0,015</b>	<b>-0,516; 0,049</b>

A vastagított értékek  $P < 0,05$  szinten szignifikánsak.

3.7. Az ivadékok viselkedését befolyásoló tényezők vizsgálata

A GLMM-modell alapján az explorációs viselkedés frekvenciájának tekintetében csak az ivadék tömege volt statisztikailag szignifikáns ( $\text{Chi}^2 = 13,12$ ;  $p = 0,0003$ ,  $df = 1$ ). A tömeg és a viselkedés frekvenciája  $r = 0,267$  ( $p = 0,036$ ) korrelációt mutat. Az ivadékok ivara azok explorációs viselkedésének frekvenciáját nem befolyásolták ( $\text{Chi}^2 = 1,41$ ;  $p = 0,235$ ,  $df = 1$ ). Az új táplálék első érintésének a látenciájára az ivadékok esetében az anya személyének hatása elhanyagolható volt (estimate = 0,1857; SE = 0,1342).

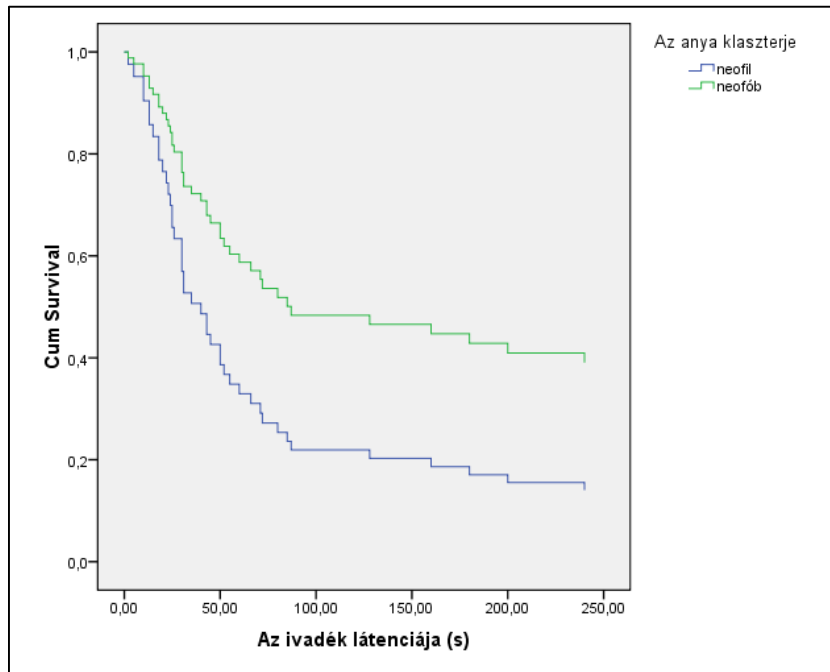
Az ivarnak nem volt szignifikáns hatása az ivadékoknál az első érintésnek a látenciáját tekintve sem, noha a hazard érték (Exp(B)) egy fölötti volt (11. táblázat). A bakok alacsonyabb értékeket mutattak  $127,1 \pm 122,9$ , mint a nőstények  $139,0 \pm 126,8$ . Az ivadék súlya és az új táplálék első érintésének látenciája között szignifikáns volt a kapcsolat (Spearman korreláció  $r = -0,269$ ;  $p = 0,034$ ;  $n = 62$ ), ez a tényező befolyásolta legerősebben a viselkedést a vizsgált hatások közül (10. táblázat).

10. táblázat: Az ivadékok új táplálék-tesztjének látenciájára ható tényezők hatásai.

	B	SE	Wald-chi <sup>2</sup>	df	P-érték	Exp(B)	95% CI	
							alsó	felső
ivar	0,341	0,326	1,098	1	0,295	1,407	0,743	2,665
tömeg	0,972	0,378	6,607	1	0,010	2,644	1,260	5,550
anya látenciája	0,736	0,345	4,547	1	0,033	2,087	1,061	4,104

B: regressziós koefficiens, SE: standard hiba, Wald chi<sup>2</sup>: Wald-féle Chi<sup>2</sup> érték, df: szabadságfok, Exp(B): relatív kockázat, CI: konfidencia intervallum

Az anya új táplálék iránti explorációjának látenciája szintén szignifikáns és erős hazard értéket mutatott (10. táblázat), a neofil anyák ivadécai igazolhatóan alacsonyabb látenciát mutattak az új táplálék tesztben (8. ábra).



8. ábra: Az eltérő explorációjú anyai klaszterek hatása az ivadékok látenciájára.

#### 4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

##### A progesteronreceptor-gén vizsgálata

A gén promóterszakaszának szekvenálásával a már leírt polimorfizmusokon kívül, egy új pontmutációt detektáltunk, azonban kapcsoltságot az SNP-k között igazolni nem tudtunk. A három vizsgált SNP közül a 2464G>A helyen található pontmutáció mutatott asszociációt a fészeképítés időzítésével, de a fészekminőséggel nem. A viselkedés genetikai hátterében a PGR gén kandidáns szerepét megállapítottuk, a tulajdonság  $h^2$  értéke 0,1. A GG genotípus a már leírt magasabb méhkapacitás mellett korábbi fészeképítést is eredményez, ami nemcsak a házasított vonalaknál, hanem a természetben is adaptív jelleggel bír. A méhkapacitásra (fiókaszámra) való szelekció megváltoztathatja a fészeképítési viselkedést is, mely a tenyésztési programokban üregi nyúl esetében erősen csökkentheti a viselkedési varianciát a kitelepítést követően. További vizsgálatok szükségesek a genotípusok természetes körülmények között megnyilvánuló teljesítményének (fitnessének) felderítésére.

##### A prolaktinreceptor-gén vizsgálata

A prolaktinreceptor-gén promóter szakaszának szekvenálásával sikeresen leírtunk négy SNP-t (SNP1-407G>A, SNP2-496G>C, SNP3-926T>C és SNP4-937A>C) és a pontmutációkon felül egy mikroszatellit is detektáltunk. Az SNP-k kapcsoltságot mutattak, és négy haplotípusra voltak elkülöníthetőek. A nyúl esetében ezek a polimorfizmusok korábban még nem kerültek leírásra. Mivel a PRLR-gén polimorfizmusai más fajokban (szarvasmarha, bivaly, kecske) összefüggést mutatnak a tejtermeléssel, vizsgáltuk az általunk detektált markerek és a tejtermelés kapcsolatát. Az SNP-

k nem, azonban a mikroszatellit kapcsoltnak bizonyult a tejtermeléssel, és a rövid fragmenthossz magasabb tejtermelést eredményezett. Jelenlegi nagyüzemi nyúltartásban leginkább felhasználható eredmény a tejtermelés növeléséhez kapcsolódik, bár a szopósnyulak fejlődését több tényező is befolyásolja (születési súly, magzati táplálóanyagellátottság, alomlétszám, környezeti feltételek), mégis az első három élethétben döntő az anyanyulak tejtermelő képessége. További vizsgálatok szükségesek eltérő módon szelektált domesztikált fajtákkal (és vonalakkal) a mikroszatellit tejtermelésre kifejtett szabályozó hatásának felderítéséhez, marker alapú szelekció kidolgozásához. Mivel az első három hétben a szopósnyulak táplálóanyagigénye, főleg nagyobb almoknál, olyan mértékű, amit az anyanyulak nehezen tudnak kielégíteni, így ez egy lehetséges előrelépést jelentene. Mivel a PRLR-gén a PRL-génnel együtt az üregi nyúlban befolyásolja a fészeképítési viselkedésnél a szőrtépés folyamatát, feltételeztük, hogy a polimorfizmusok erre a tulajdonságra is hatással lesznek. A várakozással ellentétben egyik polimorfizmus sem mutatott asszociációt a fészekben található szőr mennyiségével. Valószínűsíthető, hogy a PRL-gén befolyásolja ezt a tulajdonságot, és a receptorgén esetlegesen a viselkedés időzítésében vesz csak részt. Ennek megerősítése további célzott vizsgálatokat igényel.

#### A stressz fészeképítő viselkedésre kifejtett hatásának vizsgálata

Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy az ellést megelőző három napban fellépő kortizolszint-emelkedés nagy egyedi eltéréseket mutat, és korrelál az ellést megelőző progeszteronszint változásával. Az ellést megelőző szociális stressz a szabadon élő üregi nyúl-kolóniákban és annak negatív hatása a fészeképítő viselkedésre már részben leírásra került, vizsgálatunk azonban igazolta, hogy a stresszérzékeny anyák megkésett (közvetlenül ellést megelőző) fészekanyag-

behordása nem a csoporton belüli harcok következménye, hanem az egyedi stresszérzékenység (magas kortizolválasz) okozta progeszteron kibocsátás következménye. Arra is rámutattunk, hogy bár ennek természetes körülmények közt jelentős hatása van/lehet a fészekminőség és ezen keresztül a fiókamegmaradás alakulására, azonban ez csak korlátozott erőforrások mellett igaz. Megfelelő mennyiségű rendelkezésre álló széna mellett a fészekminőség a rövid rendelkezésre álló idő alatt is azonos a nem stresszérzékeny anyáknál tapasztaltakkal. A szőrtépést a magas kortizolszint nem befolyásolja sem idejében sem mennyiségében, így ez a tényező a fészeképítés során nem okoz eltérést. Noha a fészekminőség alapján a szaporodás sikerét a magas kortizolszint nem befolyásolja, a progeszteronszintre kifejtett hatása következtében a fiókaszám szignifikánsan alacsonyabb, és a születés kori mortalitás magasabb volt a stresszérzékeny anyáknál. Vizsgálatunk rámutat, hogy a személyiségtípus, (melynek a stresszérzékenység egyik mutatója) jelentős hatással bír a szaporodási tulajdonságokra, ami a természetes környezetben végzett vizsgálatoknál gyakran félreértelmezhető eredményekre vezethet. A nagyüzemi állattartásban új irányként jelenik meg a csoportos nyúltartás, mely még az anyanyulakat is érintené. A szociális rangsor komoly befolyásoló tényező lehet a stresszérzékenység esetében, eredményeim szerint a stresszérzékeny anyák késve kezdik meg a fészekanyag behordását, bár a fészekminőség alapján a szaporodás sikerét a magas kortizolszint nem befolyásolja, a progeszteronszintre kifejtett hatása következtében a fiókaszám szignifikánsan alacsonyabb, és a születés kori mortalitás magasabb a stresszérzékeny anyáknál. Mindezen ismeretek függvényében a gyakorlatban érdemes lenne további vizsgálatokat végezni nagyüzemi állományoknál, hasonló eredmény esetén pedig alacsony stresszérzékenységre szelektált anyaállományt lehetne kialakítani.

## A stressz hatásának vizsgálata az ivadékok ivararányára

Eredményeink azt mutatják, hogy a stresszes anyák ivadékai között szignifikánsan magasabb a nőstény ivadékok száma, mint a nem stresszes anyák ivadékainál. A kortizol gátolhatja a progeszteron felismerését, a méh véráramlását, a kapillárisok permeabilitását, ezáltal akadályozva a beágyazódást, megzavarja és rontja a méh és az embrió közötti szinkronizációt. Éppen ezért kell fokozott figyelmet fordítanunk az általa okozott következményekre. Nálunk a magas FCM-értékkel rendelkező csoportban magasabb lett a nőivarú ivadékok aránya, mely elsősorban a nőivarú egyedek számának növekedéséből és nem a hímivarú ivadékok számának csökkenéséből ered, bár tendenciálisan megfigyelhető volt ez utóbbi is. A nőivarú egyedek aránya összefüggést mutatott a fedeztetés napján mért kortizol és progeszteronértékekkel is. Eredményeink segítenek abban, hogy egy kis lépéssel közelebb juthassunk a fent tárgyalt bonyolult folyamatok megértéséhez.

## Az exploráló viselkedés vizsgálata

Az explorációs vizsgálataink eredménye több gondolatot is megindít. Egyik irány az üregi nyúl-visszatelepítő programokat érinti, melynek során ketreccben nevelt állatok kitelepítésére kerül sor, így hosszú távon nem a megfelelő egyedek kerülnek a természetes környezetükbe. Ketreces tartásban ugyanis ragadozó hiányában az exploráló egyedek kerülnek túlsúlyba, amelyek jobban, többet esznek, nagyobbak a fiókáik és eredményeink szerint többet fialnak. Azonban természetes környezetbe visszahelyezve, nagyfokú ragadozónyomás esetében könnyen kiszorulnak a rendszerből, mivel bár gyorsabban tanulnak az új helyzetekben, kevesebb információ marad meg, és több hibát ejtenek. Egy másik gondolati irány az, hogy új étellel szembeni explorációs vizsgálatok segítségével szelektálhatjuk az állományokat tejtermelés javítására, mivel a

jobban exploráló egyedek tejtermelése magasabb. Bár azt sem szabad elfelejteni, hogy vizsgálatainkat üregi nyúlön végeztük, és a domesztikált vonalagnál, ahol a domesztikáció során a predáció teljes hiánya jellemző, az is elképzelhető, hogy a bizalmasabb, többet evő, több ivadékot ellő egyedek maradtak eleve benn, így ez a tulajdonság már nem jellemző a domesztikált vonalakra.



## 5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A PGR gén promóter szakaszának szekvenálásával a 2682T>C helyen egy eddig még le nem írt pontmutációt azonosítottam az üregi nyúlban.
2. A 2464G>A helyen található pontmutáció kapcsolságot mutatott a fészeképítés időzítésével, de a fészekminőséggel nem. A GG genotípus korábbi fészeképítést eredményez, mely tulajdonság  $h^2$  értéke 0,1.
3. A PRLR-gén promóter szakaszának szekvenálásával négy új SNP-t (SNP1-407G>A, SNP2-496G>C, SNP3-926T>C és SNP4-937A>C) és a pontmutációkon felül az 577-es helyen egy mikroszatellit sikertelenül azonosítani. A pontmutációk kapcsolságot mutattak, a vizsgált állományban négy haplotípusra szegregáltak. A feltételezésekkel szemben a pontmutációk nem, a mikroszatellit viszont asszociációt mutatott a tejtermeléssel, a rövid fragmenthossz magasabb tejtermelést okozott a hosszabb szakaszhoz képest ( $1623,8 \pm 525,1g$ , illetve  $1300,4 \pm 458,6g$ ).
4. Összefüggést állapítottam meg az üregi nyúl anyák ellést megelőző három napban mért egyedi kortizolszint változása és a progeszteronszint alakulása között. A magas kortizol növekedés a progeszteronszintet magasán tartotta a fialásig. A magas kortizolválasz szignifikánsan későbbi fészeképítési (fűhordás-) magatartást eredményezett, a szörtépés időpontját azonban nem befolyásolta.
5. A stresszérzékeny anyák fészekminősége ideális körülmények mellett nem tért el a normál anyákétól, azonban a fiókaszám alacsonyabb volt.
6. Az új táplálék iránti explorációs viselkedés látenciája jól ( $r = 0,599$ ,  $p = 0,002$ ), míg a frekvenciája rosszul ( $r = 0,239$ ,  $p = 0,260$ ) ismételhető paraméter. Az exploráció látenciája negatív korrelációt mutat a tejtermeléssel ( $r = -0,673$ ), a születés kori tömeggel ( $r = -0,611$ ) és a 21 napos tömeggel ( $r = -0,516$ ).

7. Az ivadékok explorációs látenciáját szignifikánsan befolyásolja az egyed tömege és az anyának az explorációs viselkedése; a neofil anyák ivadékai igazolhatóan alacsonyabb látenciát mutattak az új táplálék-tesztben.

## 6. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

1. Benedek, Ildikó ; Altbäcker, Vilmos ; Molnár, Tamás ☒ Stress reactivity near birth affects nest building timing and offspring number and survival in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) PLOS ONE 16 : 1 Paper: e0246258 , 15 p. (2021)
2. Benedek, Ildikó ☒ ; Altbäcker, Vilmos ; Zsolnai, Attila ; Molnár, Tamás ☒ Exploring the Genetic Background of the Differences in Nest-Building Behavior in European Rabbit ANIMALS 10 : 9 Paper: 1579 , 12 p. (2020)
3. Benedek, Ildikó ☒ ; Altbäcker, Vilmos ; Zsolnai, Attila ; Molnár, Tamás Maternal cortisol level around conception is associated with offspring sex ratio in captive European wild rabbit ACTA AGRARIA KAPOSVÁRIENSIS – elfogadva