

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 19

Issue 1

Gödöllő
2023

KLÍMAVÁLTOZÁS HATÁSA A HÁZI TYÚK REPRODUKTÍV RENDSZERÉRE

Tokodyné Szabadi Nikolett,^{1,2} Tóth Roland^{1,2}, Lázár Bence^{1,2}, Várkonyi Eszter³,
Liptói Krisztina³, Tokody Dániel⁴, Ady László⁴, Gócza Elen^{1,2}*

¹Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet,
Állatbiotechnológia tanszék

2100 Gödöllő, Szent-Györgyi Albert utca 4.

²Agrár-biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszerbiztonságért Nemzeti Laboratórium

2100 Gödöllő, Szent-Györgyi Albert utca 4.

³Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézet
2100 Gödöllő, Isaszegi út 200.

⁴NextTechnologies Kft. Komplex Rendszerek Kutatóintézet

2234 Maglód, Sugár út 44.

*tokodyne.szabadi.nikolett@uni-mate.hu

Received – Érkezett: 21.11.2022.

Accepted – Elfogadva: 03.04.2023.

Összefoglalás

A klímaváltozás hatására megemelkedett középhőmérséklethez, illetve a szélsőséges nyarakhoz való alkalmazkodás képessége nélkülözhetetlen háziállataink számára. A fenntartható mezőgazdaság egyik fontos eleme, hogy háziállataink képesek legyenek tolerálni a megemelkedett környezeti hőmérsékletet.

A megtermékenyített erdélyi kopasznyakú tyúktojásokat a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ - Haszonállat-génmegőrzési Intézetből (NBGK-HGI) gyűjtöttük. A megtermékenyített tojásokat kezelések szerint három csoportba sorolt házi tyúktól gyűjtöttük. Az első, a (C) kontroll csoport, amik normál körülmények között nőttek fel. A második csoportot (heat treatment and heat stressed – HTHS) 2 napos korban 12 órán keresztül hőkezelésnek (38,5 °C) majd 23 hetes korukban hőstresszeltük (30 °C) 12 héten át. A harmadik csoportot (heat stressed – HS) csak hőstresszeltük 30 °C-on való tartással szintén 12 hétig.

Kutatásunk során elsőként szaporodási paramétereket és az embriófejlődés sikerességét vizsgáltuk.

A biotechnológia területén régóta várt cél a madár embriókból izolált őssejtvonalak létrehozása. Csoportunk 26 primordiális csírasejt (Primordial germ cell – PGC) vonalat hozott létre, amelyek hőkezelés és nem kezelt tyúkok tojásában fejlődött embriókból származnak. Ezen PGC vonalak használatával csoportunk megvizsgálhatja a hőstressz hatását a hőkezelés utód generációjában.

Ezekben a primordiális ivarsejt tenyészetekben a mikroRNS-ek (miRNS) expressziós szintjének változása volt kimutatható. A miRNS-ek közül a miR-138-nak tulajdonítanak nagyobb szerepet. A PGC minták vizsgálata során azt találtuk, hogy a miR-138 expresszió a HTHS csoportból származó PGC-kben magasabb volt, mint a kontroll csoportban.

Tehát a létrehozott PGC vonalakkal lehetőségünk van jellemezni a hőkezelés és a hőstressz hatását házi tyúkban.

Kulcsszavak: klímaváltozás, házi tyúk, primordiális ivarsejt, sejttenyésztés

The negative effects of climate change on the chicken reproductive system

Abstract

It is now well established that animal adaptation to heat stress is one of the most critical elements of the future of agriculture. Breeders, due to broad usage of poultry in the EU and worldwide, have to face with changing farming conditions.

Fertilized eggs of Transylvanian Naked Neck Chicken were collected from three groups of hens at National Centre for Biodiversity and Gene Conservation - Institute for Farm Animal Conservation in Gödöllő (NBGC - IFC), Hungary, then incubated at 38°C at 60% humidity. The first one, the control group (C), grew up under normal conditions without exposure to any heat treatment and stress. In the second group (HTHS) the 2-day old chicks were subjected to heat treatment (38.5°C) for the first 12 hours followed by heat stress 30°C at 23-week old continuing about 12 weeks long. The third group (HS) was only heat stressed.

In our work, different reproduction parameters and embryo developmental rate of three groups were compared.

In the field of biotechnology, it is a long-awaited goal to establish stem cell lines isolated from the avian embryos. Our group established 26 Primordial Germ Cell (PGC) lines derived from embryos developed in the eggs of heat-treated and non-treated hens. By using these PGC lines, our group can examine the impact of heat stress on the next generation of heat-treated chickens. The main family of microRNA (miRNA) studied in chicken is miR-138. Our analysis indicated that in the HTHS there is a higher miR-138 expression in PGC than in the control group. We found an increased level of another miRNA expression in PGC of chicken when we used the heat treatment.

Using these established PGC lines, we can characterize the effect of heat treatment and heat stress in the next generation.

Keywords: climate change, chicken, primordial germ cells, cell culture

Irodalmi áttekintés

Kutatásunk két fő mozgató rugója, hogy hogyan lehetne megőrizni a gazdasági termelés hatékonyságát klímaváltozás idejében, illetve, hogy a megemelkedett igényeket kielégítő ipari termelés okozta genetikai anyag veszteséget ellensúlyozzuk.

A magas hőmérséklet minden szaporasági és termelési paramétert negatívan befolyásol, ezáltal súlyos gazdasági kiesést okoz, akár a húsminőség, akár a tojástermelés mennyiségére nézve. Napjainkban már számos mérsékelt övi területen is, így hazánkban is egyre szárazabbak és forróbbak a nyarak. Ennek okán a hőstressz okozta károk a nagyüzemek esetében jelentősek, így a hőstressz hatására bekövetkező negatív hatások megelőzésére egyre nagyobb igény mutatkozik. A jövő hatékony mezőgazdaságának kialakításában nagy szerepe lesz az állatok fokozott adaptációs képességének, mivel világszerte megnövekedett az igény a baromfi termékekre (Nawab és mtsai, 2018).

A mezőgazdasági termelés fejlődése a háziasítástól eljutott az egy-egy adott tulajdonságra célzottan történő tenyésztésig, ami ipari méretekben nagyfokú genetikai anyag veszteséhez vezetett. Napjainkban, csak a tyúkfajtákat nézve már 14 fajta tűnt el véglegesen a Földről. Ez a tény egyre inkább átalakítja az emberiség szemléletét, elfogadottá vált a biodiverzitás fenntartására való törekvés mind a növény-, mind az állatvilágban (FAO, 2013). Tehát a figyelem középpontjába ennek az aránynak az egyensúlyban tartása került, vagyis működő mezőgazdasági termelés mellett a ritka gének megőrzésének biztosítása (FAO, 2007).

Ehhez nélkülözhetetlen hatékony génkonzerválási stratégiák kidolgozása, majd azok optimalizálása az eltérő fajokra, fajtákra. Madarak esetében a Primordiális ivarsejt (*Primordial germ cell* – PGC) tenyésztetek létrehozása, és tanulmányozása során kapott információk hozzájárulhatnak mindkét probléma kör megoldásához.

Madarak esetében a PG sejtek az embrió keringési rendszerét használják arra, hogy eljussanak az ivarszervtelepekig (*Intarapat*, 2011). A Hamburger és Hamilton nevezéktan szerinti HH 12-14-es stádiumban belépnek az embrió vérkeringésébe, majd két és fél napon eléri a vérben a csúskoncentrációt (HH 14-17) (*De Melo Bernardo* és *mtsai*, 2012), ez az az időablak, amikor a leszívott vérből lehetséges PGC vonalakat létrehozni.

Kutatócsoportunk a legfrissebb szakirodalmi adatok alapján adaptált protokollokat fejlesztve képes a házi tyúk PG sejtek hatékony kinyerésére, és tiszta sejttenyésztetek alapítására, fenntartására. A génmegőrzés pedig ezeknek a sejttenyészteteknek a hatékony mélyhűtésével valósulhat meg, mivel a reprodukálható mélyhűtési technikát alkalmazva hoztunk létre génbankot házi tyúk fajtákból izolált PGC tenyésztetekből (*Lázár* és *mtsai*, 2017; *Lázár* és *mtsai*, 2018).

A génmegőrzésen túl, a PGC tenyésztetek új alkalmazási lehetőséggel is szolgálnak az állatbiotechnológiai kutatások terén. Lehetőséget biztosítanak az ősvarsejtek karakterizálására, a fejlődésspecifikus gének, illetve mikroRNS-ek expressziós mintázatának vizsgálatára. Ahhoz, hogy megértsük az állatok hőstresszre adott válaszaik mögött meghúzódó molekuláris folyamatokat, molekuláris szintű génextpressziós vizsgálatok elvégzése szükséges. A PGC tenyésztetek ezekben a kísérletekben modellrendszerként alkalmazhatók a szülői generáción végzett kezelések hatására végbemenő molekuláris folyamatok tanulmányozására is (*Vinoth* és *mtsai*, 2018; *Tóth* és *mtsai*, 2019).

Kutatásunk célja volt, a PGC tenyésztetek karakterizálása, modellrendszerként való alkalmazás, a szülői generáción alkalmazott hőkezelés hatásának kimutatása génextpressziós szinten. Valamint epigenetikai örökíthetőségének igazolása.

Anyag és módszer

A házi tyúk tartása, hőkezelése

A megtermékenyített Kendermagos Erdélyi Kopasznyakú tyúk tojásokat a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézetétől (NBGK-HGI) származtak, illetve az állatkísérletek is itt folytak az állatok védelméről és kíméletéről szóló 1998. évi XXVIII. törvénynek megfelelően, amihez a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi és Állatvédelmi Igazgatósága engedélyt adott.

A tojásokat MIDI F500S keltetőgépben 37,8°C-on, 70%-os páratartalom mellett inkubáltuk. A kikelés utáni első 24 órában a csibéket infravörös lámpa alá helyeztük 32 °C-on nedvszívó papíralmon, a takarmány és a víz ad libitum hozzáférhető volt (*Tóth* és *mtsai*, 2021). Ezután a 2 napos fiókák harmadát visszahelyeztük a keltetőgépbe hőkezelésre. A hőmérsékletet 38,5°C-ra, a páratartalmat pedig 60%-ra állítottuk be 12 órán keresztül. Az ivóvíz és a takarmány ad libitum volt bent. A többi csibét mélyalmon, ad libitum takarmányozás mellett, 32 °C-on tartottuk. Ezután a hőkondicionált és kezelést nem kapott állatokat azonos körülmények között neveltük. Ivarérést követően (23 hetesen) a hőkondicionált csoportot (*heat treatment and heat stressed* – HTHS) és a kezelést nem kapott állatok felét (*heat stressed* - HS) hőstresszeltük, 30 °C-on való tartással 12 hétig, egy légtérben, faforgács és zeolit keverék almon, 16 órás világítás mellett, a takarmány és víz ad libitum elérhető volt. Azok az állatok, amelyek nem kaptak sem hőkondicionálást sem hőstresszt, azokat tekintettük kontroll (C) csoportnak.

Az utód generáció vizsgálatához a megtermékenyített tojásokat a kezelések szerint három csoportba sorolt házi tyúkoktól gyűjtöttük. Miszerint volt a kontroll (C) csoport, a 2 naponan hőkezelésnek és 23 hetesen hőstresszelt csoport (HTHS) valamint a 23 hetes korban hőstresszelt csoport (HS) (1. ábra).

1. ábra: Hőkezelési kísérlet folyamatábrája

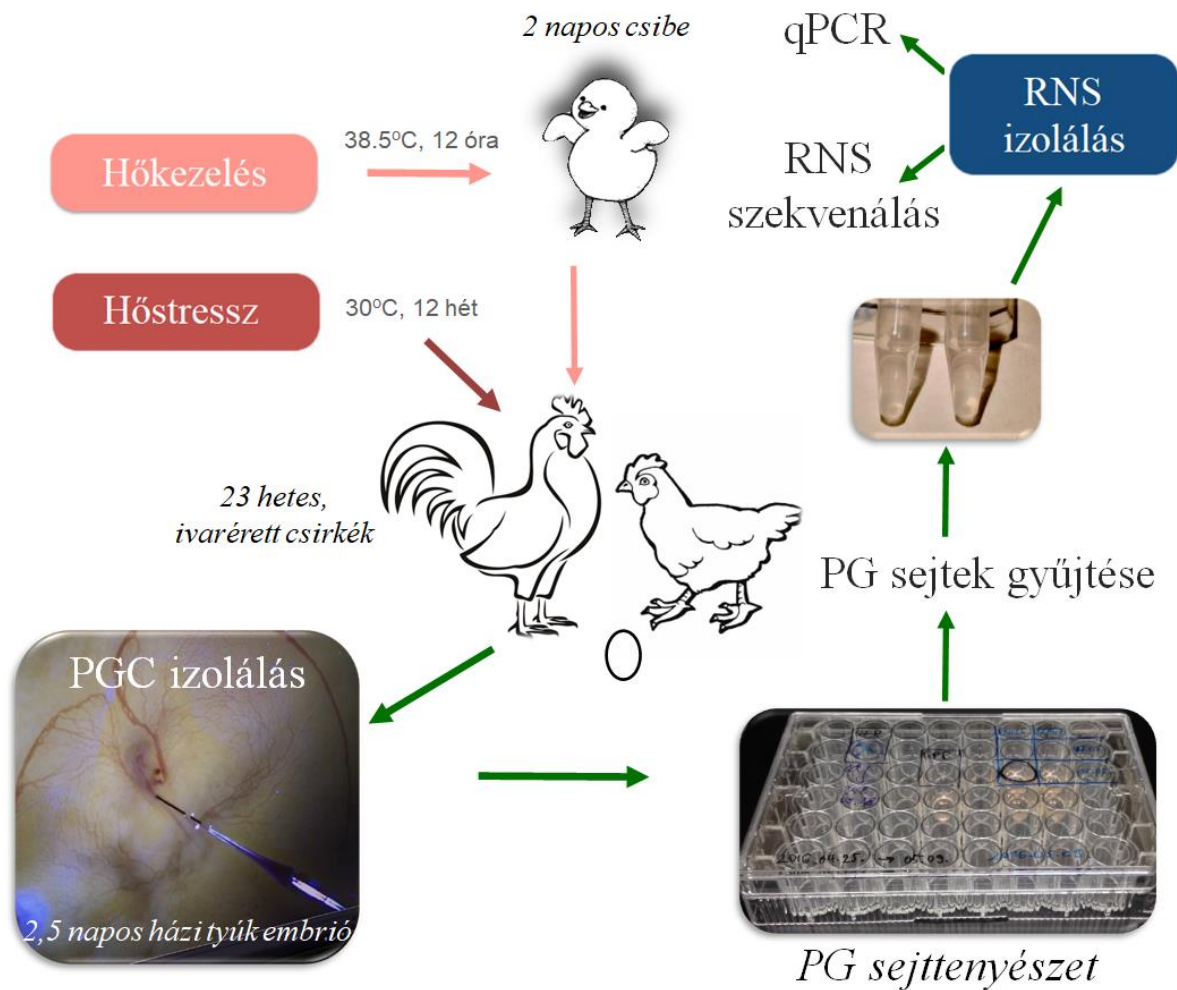


Figure 1: Flow diagram of heat treatment experiments

The 2-day old chicks were subjected to heat treatment (38.5°C) at 60% humidity for the first 12 hours followed by heat stress (30°C) at 23-week old continuing about 12 weeks long.

In the experiment, primordial germ cell (PGC) lines were established from the next generation of animals exposed to direct heat (from embryos in the HH14-16 stage of development). We isolated DNA and RNA from the PG cell lines created in this way, from which we later performed qPCR studies and RNA sequencing.

A kikelés után 24 óra elteltével a csibéket 38,5°C-os környezeti hőmérsékleten hőkezelésnek, 60%-os páratartalom mellett 12 órán keresztül. Ivarérést követően hőstresszt alkalmaztunk, két héten át 30°C-os hőmérsékleten való tartással.

A kísérletben közvetlen hőhatásnak kitett állatok utód generációjából (HH14-16 fejlődési állapotban levő embriókból) alapítottunk primordiális ősvarsejt (PGC) vonalakat. Az így létrehozott PG sejtvonalakból RNS-t izoláltunk, amiből később qPCR vizsgálatokat, illetve RNS szekvenálást végeztünk.

PG sejtek gyűjtése, tenyésztése

A megtermékenyített tojásokat keltetőgébe helyeztük (37,8°C, 70%-os páratartalom), majd 2,5 nap elteltével izoláltuk a PG sejteket a Hamburger-Hamilton féle nevezékten HH14-16-os stádiumú embriók véréből (*Hamburger és Hamilton, 1951*). Az izolálás az embrió dorzális aortáján keresztül történt egy üveg mikropillárisal, amivel 1-2 µl vért tudtunk összegyűjteni. Ezt a mennyiségű vért egy speciális tenyésztőmediumba helyeztük, ami csak a PG sejtek fejlődését támogatja, egy pár héten belül a vorsejtek elpusztulnak, majd egy tiszta PGC tenyészetet kapunk. A felhasznált médium elkészítésének leírása a skóciai Roslin Intézettől származik (*Whyte és mtsai, 2015; Tóth és mtsai, 2017*).

A sejtvonalak tenyésztése során az elsődleges cél a megfelelő mennyiségű és minőségű sejtszám elérését követően az egyes vonalak visszafagyasztása és hosszú idejű tárolása -150°C-on, illetve folyékony nitrogénben, vagyis a génbank megléte (*Silva és mtsai, 2023*). A sejtek egy részét a laborunk által kifejlesztett fagyasztási protokoll alapján fagyasztottuk a hosszú távú fenntartás érdekében. Csoportunk 26 primordiális ivarsejt vonalat alapított. Lehetőség van a mélyhűtött sejtenyészetek felolvasztására, majd tovább tenyésztést követően azok vizsgálatára. Minden sejtvonal esetében az újra tenyésztést követően fagyasztunk vissza sejteket, illetve gyűjtünk le lízis pufferben RNS izoláláshoz, amik -70°C-on tárolhatók a feldolgozásig.

RNS izolálás, szekvenálás

Az RNS izolálása a három kezelési csoportból HTHS, HS és C származó tyúkok 2,5 napos tojásaiban fejlődő, HH14-16-os fejlettségi állapotú embriókból létrehozott PG tenyészetek sejtjeiből történt. A lízis pufferben gyűjtött PGC mintákat tartalmazó fagyasztó csöveket 90 másodpercre 37°C-os vízfürdőbe téve olvasztottuk fel azokat, majd a PG sejtekből RNAqueous™ Total RNA Isolation Kittel, a protokoll alapján végeztük el az RNS izolálást. Az izolálás során kapott RNS koncentrációját NanoDrop (ND-1000, Thermo Scientific, UV-Vis) spektrofotométerrel mértük.

Az RNS szekvenálást Bertrand Pain (*Stem-Cell and Brain Research Institute, USC1361 INRA, U1208 INSERM, 69675 Bron, France*) és kutatócsoportja végezte a kezelési csoportonként összeállított RNS pool mintáinkból (C, HS, HTHS).

Real-time PCR

Hőkezelés hatására indukálódó markerek expressziós mintázat változásának nyomon követését real-time PCR (qPCR) technika segítségével végeztük. A qPCR-hez 96 lyukú plate-et használtunk, a reakciót Eppendorf Mastercycler Realplex készülékben végeztük. A reakcióhoz az előzőleg elkészített cDNS oldatokból 1µl-t, a TaqMan master mixet és a primereket tartalmazó qPCR mixből 14µl-t mértünk be lyukanként. Minden minta/primer esetében 3 párhuzamos mérést végeztünk.

Belső kontrollként (háztartási génként) GAPDH-t alkalmaztunk, illetve a vizsgálandó markerek esetében a szakirodalomban is leírt primer párokat (CVH, PouV, DAZL, miR-302b-3P, miR-302b-5P, miR-213, miR-U6, miR-92, miR-138, DMRT1) használtunk (*Kisliouk és mtsai, 2011; Prastowo & Ratriyanto, 2021; Tavares és mtsai, 2018*) (1. ábra).

Eredmények és értékelés

A PG sejtvonala alapítás során csoportonként 47 db tojásból indultunk ki. Az oszlop diagrammokon megfigyelhető, hogy a HS csoportban 0,7-szer kevesebb volt az életképes embriók aránya, míg a HTHS csoportban a C-hoz viszonyítva 1,1-szer több, a HS-hez képest pedig 1,57-szer annyi életképes embrióból tudtunk vért izolálni.

Az összefoglaló vonal diagrammon látható, hogy a HTHS csoportban közel azonos embrióból (22 db) indultunk ki mint a kontroll csoport (20 db) esetében, viszont 1,375-ször annyi PGC vonalat tudtunk alapítani a HTHS csoportok esetén (2. ábra). A PGC vonala alapítás sikerességének aránya (1,57) megegyezett az életképes embriók arányával (1,57) a HTHS csoportban a HS csoporthoz viszonyítva.

Megvizsgáltunk ősvarsejt (CVH, PouV, DAZL) specifikus markerek, illetve hőstresszel kapcsolt (miR-302b-3P, miR-302b-5P, miR-213, miR-U6, miR-92, miR-138, DMRT1) markerek expressziós mintázatát a kísérletben részt vett házi tyúk utód generációjából alapított PGC tenyészetekben. Az általunk vizsgált gének közül a miR-92, miR-138 és a DMRT1 esetében találtunk expressziós szint változást a kezelések hatására.

2. ábra: PG sejtvonala alapítása, tenyésztése

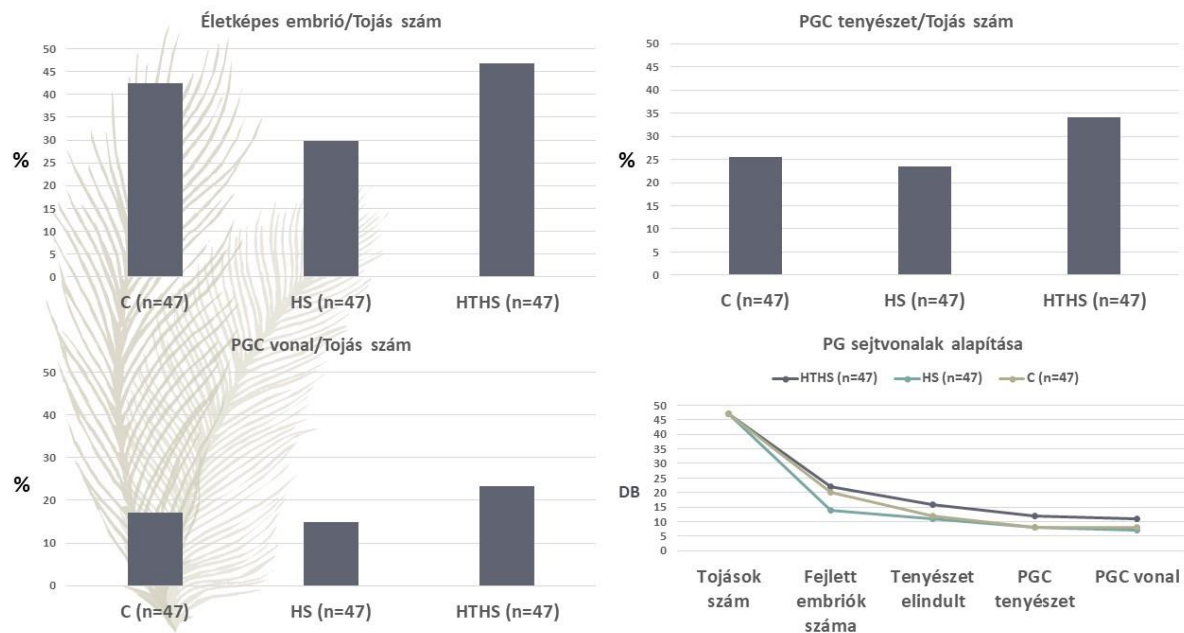


Figure 2: Establishment and cultivation of PG cell lines

The bar graphs show the ratio of viable embryos, cultured PGCs and surviving PGC lines to the starting egg number, expressed as a percentage. And the line diagram summarizes the piece numbers of the phases of cell line establishment.

C ~ Group of control animals, HS ~ Group of heat-stressed animals, HTHS ~ Group of heat-treated and heat-stressed animals

Az oszlop diagrammok az életképes embriók, a tenyészetbe vitt PGC-k és a fennmaradt PGC vonalak arányát mutatják a kiindulási tojásszámhoz viszonyítva, százalékban kifejezve. A vonal diagram pedig összefoglalja a sejtvonala alapítás fázisainak darab számait.

C ~ Kontroll állatok csoportja, HS ~ Hőstresszelt állatok csoportja, HTHS ~ Hőkezelt és Hőstresszelt állatok csoportja

A PGC-kből származó RNS mintákat kezelési csoportonként pooloztuk, majd megszekvenáltattuk. RNS szekvenálással több olyan gén esetében is kaptunk expressziós szint

változást (miR-6545, RUNX2, ENDOG), amelyek a szakirodalmi adatok alapján (Tavares és mtsai, 2018) is fontos szerepet játszanak a hőstressz során aktiválódó molekuláris folyamatokban (3. ábra).

3. ábra: RNS szekvenálási adatok *heat map* ábrája

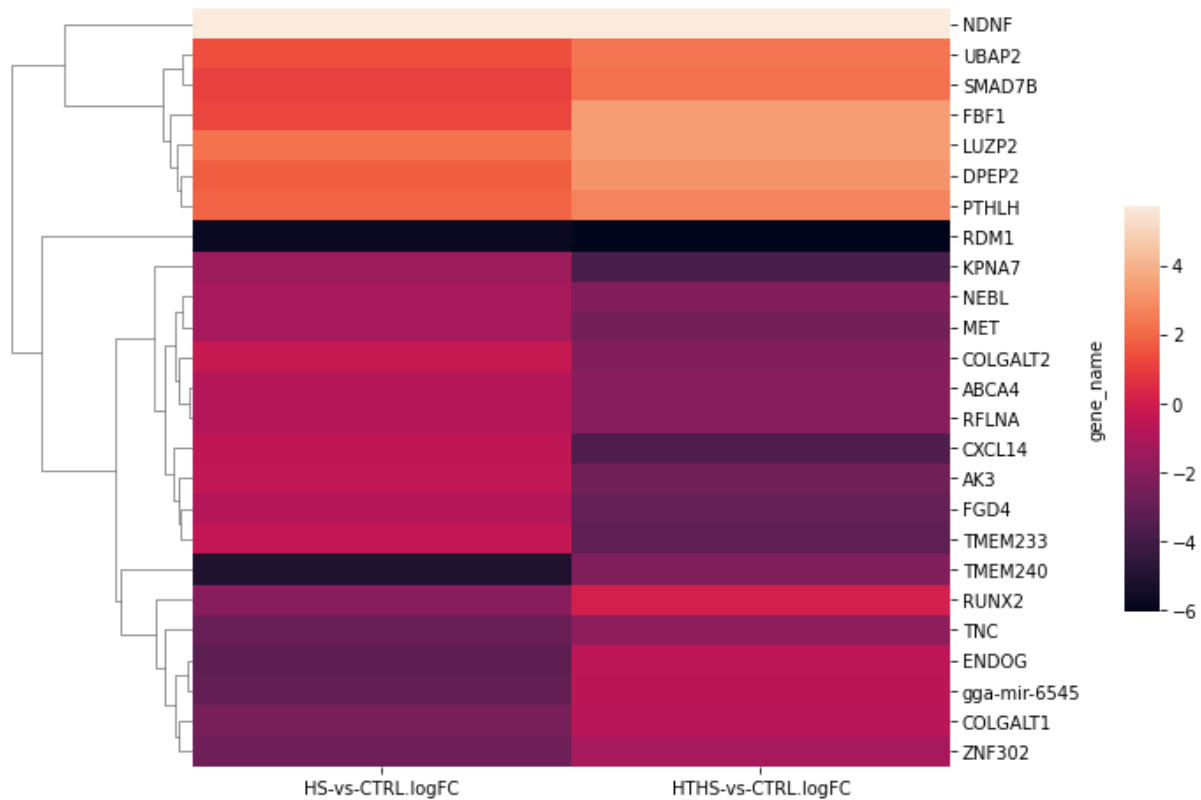


Figure 3: Heat map of RNA sequencing results

The heatmap is a summary diagram that contains the genes with altered expression in response to stress detected by RNA sequencing (abbreviations shown per row). Where the left-hand column shows the expression values measured in PGC samples from the heat-stressed group (HS) with color intensity compared to the control (C) values, while the right-hand column shows the data of the PGC samples created from the heat-conditioned and heat-stressed group (HTHS) also compared to the control (C). A light color indicates an increase in the expression level of the given gene, a dark color indicates a decrease in the expression level.

A heatmap egy összesítő ábra, amely az RNS szekvenálással detektált, stresszválaszban megváltozott expressziójú géneket (soronként feltüntetett rövidítések) tartalmazza. Ahol a bal oldali oszlop a hőstresszelt csoportból (HS) származó PGC mintákban mért expressziós értékeket színintenzitással jelzi a kontroll (C) értékekhez viszonyítva, míg a jobb oldali oszlop a hőkondícionált és hőstesszelt csoportból (HTHS) létrehozott PGC minták adatait szintén a kontrollhoz (C) viszonyítva. A világos szín az adott gén esetében kimutatott expressziós szint növekedését, a sötét szín az expressziós szint csökkenését jelzi.

Következtetések és javaslatok

Kutatócsoportunk korábbi eredményei alapján elmondható, hogy a reprodukzív tulajdonságok kevésbé romlottak a hőkondicionált állatok esetén (HTHS), a tojástermelés és termékeny tojások mennyisége a kontroll csoporthoz volt hasonló a csak hőstresszelt (HS) tyúkokhoz képest (Tóth és mtsai, 2021). Ebben a tanulmányban pedig megerősítettük ezen állításunk, miszerint a hőkondicionálás javította az életképes embriók arányát a házi tyúkokat ért hőstressz esetén.

RNS szekvenálás eredményeként sikerült meghatározunk azokat a kulcsfontosságú géneket (miR-6545, RUNX2, ENDOG), amelyek eltérő mértékben expresszálódnak a hőkondicionált, majd hőstresszelt házi tyúkok, illetve csak hőstresszelt állatok embrióiból származó PG sejtenyészetekben. Elmondható, hogy az általunk alkalmazott hőhatás, illetve hőhatások változtatták meg a génexpressziós mintázatot. Az RNS szekvenálás eredményeit qPCR elemzésekkel és szakirodalomban leírt adatokkal is megerősítettük, ami alapján elmondható, hogy a miR-6545 befolyásolja a DMRT1 kifejeződését, míg a miR-138 jelenléte hatással van a RUNX2 expressziójára (Kisliouk és mtsai, 2011; Prastowo & Ratriyanto, 2021; Tavares és mtsai, 2018).

A hőkondicionálás az ősvarsejteken is kimutatható génexpressziós szint változásokat idéz elő, ami arra utal, hogy a kezelés okozta epigenetikai változások az utód generációkra átadódnak. Tehát az általunk alkalmazott kísérleti paraméterek mellett is ki tudtuk mutatni a hőstressz során szerepet játszó faktorok expressziós szint változását az utód generációban is, ami alátámasztja a fiatal korú hőkezelés fontosságát.

Továbbiakban tervezzük az RNS szekvenálással kapott szekvenciáink egyezését vizsgálni az adatbázisokban elérhető referencia genommal, amelyet HPC (*High Performance Computing*) erőforrás felhasználásával szeretnénk elvégezni. Mivel a referencia genom nem az általunk elvégzett kezelési kísérletből származik, ezért a szekvenciák között lehetnek eltérések, így az egyezést úgy kell meghatározni, hogy minimális eltérés elfogadott legyen. Nem lehet merev egyezést vizsgálni, helyette lágy egyezést kell alkalmazni, viszont a lágy egyezés vizsgálat számítási igénye nagyobb.

A házi tyúk teljes genom szekvencia 20.000-23.000 génből áll, ami 1 milliárd DNS bázispár (Furlong, 2005). Viszont a teljes DNS szekvencia átlapolt szétvágással, a számítási feladat független részekre választható szét és így könnyen párhuzamosítható, ezáltal SMP, GPGPU architektúrán jól skálázható. A feldolgozáshoz HPC környezetben párhuzamosan futtatott python szoftvert használnánk, amihez a pyPaSWAS, pyOpenCl, pyCUDA, numpy, biopython környéteket használnánk (Warris és mtsai, 2018) a hozzáférhető HPC adottságaihoz igazítva. A magyar HPC kapacitásokban megtalálható NUMA, SMP klaszter és GPU klaszter (KIFÜ, 2018). A futtatás előkészítése az adat gyűjtésből (saját szekvenciák és a hozzá tartozó referencia genom), HPC kapacitás igénylésből és python script tervezéséből, implementálásából és teszteléséből áll. Az implementálást és tesztelést a NextTechnologies Kft.-vel együttműködve tervezzük pár számítási lépés végrehajtásával. Ezt követően a feladat HPC-én történő futtatása, eredmények letöltése következik. Az utómunkálatok során validálás és vizualizálás a NextTechnologies Kft. gépeivel fog történni.

Köszönetnyilvánítás

A kutatásokat az RRF-2.3.1-21-2022-00007, H2020-RUR-2020-1/CSA/101000728 NETPOULSAFE, 2019-2.1.11-TÉT-2019-00036 pályázataink támogatták. Valamint A KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS MINISZTERIUM ÚNKP-22-3-II-37 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK A NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS ALAPBÓL

FINANSZÍROZOTT SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.



Irodalomjegyzék

- De Melo Bernardo, A., Sprenkels, K., Rodrigues, G., Noce, T., Chuva De Sousa Lopes, S. M.* (2012): Chicken primordial germ cells use the anterior vitelline veins to enter the embryonic circulation. *Biol. Open*, 1. 1146–1152.
- FAO* (2007): Interlaken Declaration on Animal Genetic Resources. Global Plan of Action for Animal Genetic Resources. Letöltve: <http://www.fao.org/3/a-a1404e.pdf>
- FAO Report* (2013): Status And Trends Of Animal Genetic Resources. 14th Session, 2013. Rome. Letöltve: <http://www.fao.org/3/my867en/my867en.pdf>
- Furlong R. F.* (2005): „Insights into vertebrate evolution from the chicken genome sequence”, *Genome Biol.*, 6. 2. 207.
- Hamburger, V., Hamilton, H. L.* (1951): A series of normal stages in the development of the chick embryo, *Journal of morphology*, 88. 1. 49–92.
- Intarapat, S.* (2011): Isolation and characterisation of chick embryonic primordial germ cell. PhD thesis, Developmental and Stem Cell Biology Department of Cell and Developmental Biology University College London (UCL) London, United Kingdom.
- KIFÜ HPC* infrastruktúra. 2018. <https://hpc.kifu.hu/hu/a-kifu-hpc-infrastrukturaja>
- Kisliouk, T., Yosefi, S., Meiri, N.* (2011): MiR-138 inhibits EZH2 methyltransferase expression and methylation of histone H3 at lysine 27, and affects thermotolerance acquisition. *Eur J Neurosci.*, 33. 2. 224–235.
- Lázár, B., Anand, M., Tóth, R., Várkonyi, E.P., Liptói, K., Góczy, E.* (2018): Comparison of the MicroRNA Expression Profiles of Male and Female Avian Primordial Germ Cell Lines. *Stem Cells Int.*, 10. 2018:1780679.
- Lázár, B., Tóth, R., Nagy, A., Anand, M., Liptói, K., Patakiné Várkonyi, E., Góczy, E.* (2017): Primordial germ cell-based biobanking of Hungarian indigenous chicken breeds. *Poult. Sci.*, 96. 62.
- Nawab, A., Ibtisham, F., Li, G., Kieser, B., Wu, J., Liu, W., Zhao, Y., Nawab, Y., Li, K., Xiao, M., An L.* (2018): Heat stress in poultry production: Mitigation strategies to overcome the future challenges facing the global poultry industry. *J Therm Biol.*, 78. 131–139.
- Prastowo, S. & Ratriyanto, A.* (2021): miRNA target prediction of avian Z-linked DMRT1 gene during sex determination in chicken (*G. Gallus*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 905. 012148. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/905/1/012148>.
- Silva, R., Joost, S., Lessard, C., Moran, D.* (2023): The economics of gene banking. In Editor (Ed.). Boes, J., Boettcher, P. & Honkatukia, M., eds. 2023. Innovations in cryoconservation of animal genetic resources - Practical guide. *FAO Animal Production and Health Guidelines*, No. 33. Rome.. 10.4060/cc3078en.



- Tavares, A.L.P., Brown, J.A., Ulrich, E.C., Dvorak, K., Runyan, R.B. (2018): Runx2-I is an Early Regulator of Epithelial-Mesenchymal Cell Transition in the Chick Embryo. *Dev Dyn.*, 247. 3. 542–554.
- Tóth, R., Lázár, B., Anand, M., Nagy, A., Patakiné Várkonyi, E., Gócza, E. (2017): Comparison the germ and stem cell specific marker expression in male and female embryo derived chicken PGCs. In: Heiszler, Zs., Hohol, R. and Éles-Etele, N. (eds) Hungarian Molecular Life Sciences Conference. Programme and Book of Abstracts. Eger, Hungary. 240–241.
- Tóth, R., Tokodyné Szabadi, N., Lázár, B., Buda, K., Végi, B., Barna, J., Patakiné Várkonyi, E., Liptói, K., Pain, B., Gócza, E. (2021): Effect of Post-Hatch Heat-Treatment in Heat-Stressed Transylvanian Naked Neck Chicken. *Animals*, 11. 6. 1575.
- Tóth, R.I., Lázár, B., Tokodyné Szabadi, N., Patakiné Várkonyi, E., Gócza, E. (2019): Óshonos magyar tyúkfajták, mint lehetséges univerzálisrecipiensek az ősvarsejt alapú génmegőrzésben. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 141. 439–447.
- Vinoth, A., Thirunalasundari, T., Shanmugam, M., Uthrakumar, A., Suji, S., Rajkumar, U. (2018): Evaluation of DNA methylation and mRNA expression of heat shock proteins in thermal manipulated chicken. *Cell Stress Chaperones*, 23. 2. 235–252.
- Warris, S., Timal, N.R.N., Kempenaar, M., Poortinga, A.M., van de Geest, H., Varbanescu, A.L., Nap, J.P. (2018): pyPaSWAS: Python-based multi-core CPU and GPU sequence alignment. *PLoS One*, 13. 1. e0190279.
- Whyte, J., Glover, J.D., Woodcock, M., Brzeszczynska, J., Taylor, L., Sherman, A., Kaiser, P., McGrew, M.J. (2015): FGF, Insulin, and SMAD Signaling Cooperate for Avian Primordial Germ Cell Self-Renewal. *Stem Cell Reports*, 5. 6. 1171–1182.