

Állatorvostudományi Egyetem
Biológia Intézet, Ökológiai Tanszék

Amylin agyi expressziójának hatása zebrapintyek utódgondozására



Készítette: Németh Viktória Bernadett
Biológia BSc

Témavezető: Dr. Pogány Ákos
adjunktus
ELTE TTK Biológiai Intézet, Etológia Tanszék

Belső konzulens: Dr. Kosztolányi András
tudományos főmunkatárs
ÁTE, Biológia Intézet, Ökológia Tanszék



Budapest
2017

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	3
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. Az utódgondozás	5
2.2. A zebra-pinty	7
2.3. Az agy szociális hálózata (SBN)	10
2.4. Amylin	13
3. Célkitűzések.....	15
4. Anyag és módszer	15
4.1. Vizsgálati populáció és tartási körülmények	15
4.2. Szülői viselkedés felvétele.....	16
4.3. Viselkedés kódolása	18
4.4. Agyak gyűjtése és feldolgozása.....	18
4.5. <i>In situ</i> hibridizáció amylin próbával	19
4.6. Kvantifikáció	19
5. Statisztika.....	20
6. Eredmények	21
6.1. Viselkedés analízise.....	21
6.2. Agyterületek vizsgálata	22
6.2.1. Amylin expresszió a gondozási csoportok között.....	22
6.2.2. Amylin expresszió a nemek között	22
6.3. Amylin expresszió és az utódgondozás összefüggései.....	23
7. Diskusszió	24
8. Összefoglalás	27
9. Abstract.....	28
10. Irodalomjegyzék.....	30
11. Köszönetnyilvánítás	36
12. Melléklet.....	39
.....	39

Rövidítések jegyzéke

AH – anterior hypothalamus

blAMY – basolateralis amygdala

BSTm – bed nucleus of the stria terminalis

HVC – higher vocal centre

Hth – hypothalamus

IAPP – amylin, islet amyloid polypeptide

ICo – nucleus intercollicularis

LHy – lateralis hypothalamus

LS – lateralis septum

NAcc – nucleus accumbens

MeA – medialis amygdala

mPOA – medialis preopticus area

MST – medialis striatum

PAG – periaqueductal gray (periaqueductalis szürkeállomány)

POA – preopticus area

SBN – social behavior network

Str – striatum

VMH – ventromedialis hypothalamus

X – Area X

1. Bevezetés

A szülői utódgondozás, mint fontos evolúciós stratégia, valamilyen formában sok állatfajnál megjelenik, így természetes, hogy nagyon sok kutatás irányul e stratégiák és a mögöttük álló mechanizmusok felkutatására. Ezen kutatások nagy része a gondozással kapcsolatban álló agyi területek és hozzájuk kapcsolódó hormonok működésével foglalkozik. A gondozás különböző reprodukciós stádiumokban, eltérően jelenhet meg akár egy, akár mindkét szülő által. (Clutton-Brock, 1991; Reynolds, Goodwin & Freckelton, 2002] Amíg a laborban gyakran használt patkányok és egerek esetén a szülői gondozás nagy része az anyákra hárul és nem jellemző a monogámia, addig a madarak sok fajánál gyakori a szociális monogámia és ezzel együtt a kétszülős utódgondozás is (Burley & Johnson, 2002). A zebrapintyek (*Taeniopygia guttata*) esetén is így van, így kiváló modell állatok a gondozó viselkedés tanulmányozására. A szülői gondoskodás megoszlik a nemek között, a szaporodás különböző szakaszaiban más arányban hárul a munka a pár tagjaira; pl. a fészeképítés főként a hím, kotlás túlnyomórészt a tojó „dolga” (Zann, 1996).

A madarak, ezen belül a zebrapintyek viselkedésének és ehhez kapcsolódó agyi működéseinek vizsgálata eddig főként az énektanulásra (pl. Zann, 1996; Elie & Theunissen, 2016; Perfito *et al.*, 2015; Menyhart *et al.*, 2015) illetve a szociális kapcsolatok kialakítására koncentrált (Bölting & von Engelhardt, 2017; Griffith *et al.*, 2015). A szülői, ezen belül az utódgondozási viselkedésre viszonylag kevés hangsúly került.

Az amylin egy hasnyálmirigy által termelt peptid, amely anyapatkányok agyában a hypothalamus preoptikus területén expresszálódik anyai viselkedés alatt (Szabó *et al.*, 2011). Madarak esetén ennek a peptidnek a jelenlétét és hatásait még nem vizsgálták, így mi kíváncsiak voltunk, hogy milyen agyi területeken jelenik meg, illetve a faj gondozó stratégiáját tekintve hogyan expresszálódik hím illetve tojó egyedekben az utódgondozás különböző szakaszaiban.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az utódgondozás

Az utódgondozás alatt azon viselkedésformákat értjük, amelyek valamilyen közvetett vagy közvetlen formában hozzájárulnak az utódok felneveléséhez, így segítve elő a faj fennmaradásához, a szülők genetikai állományának sikeres továbbjutásához illetve az utódok fitnessének növeléséhez (Clutton-Brock, 1991). Más megközelítésben a szülői befektetés olyan viselkedés, amely növeli az utód túlélési esélyét, de ugyanakkor a szülő későbbi reprodukciós sikerére negatív hatással van (Trivers & Willard, 1973).

A legtöbb élőlény nem gondozza az utódait. Ahol azonban megjelenik, ott a gondozás mértéke taxononként változó; lehet igen kezdetleges, vagy egészen kifinomult: ez alapján főként az emlősök (Mammalia) és madarak (Aves) jutnak eszünkbe az utódgondozás kapcsán, mert ezek utódgondozó viselkedése a leglátványosabb, illetve a legkutatottabb. Emellett természetesen akadnak jól ismert kivételek a gerinctelenek körében is (pl. temetőbogarak (*Nicrophorus sp.*) (Eggert & Müllr, 1997) vagy a nagyfejű csajkó (*Lethrus apterus*) (Zeh & Smith, 1985)).

A szülői gondozás akkor válhat kiemelten fontossá, ha az élőlény szaporodás közben valamilyen extrém környezeti hatásnak van kitéve (pl. császárpingvinek (*Aptenodytes forsteri*) jégen költése), magas a predációs nyomás, esetleg ritka források felhasználására specializálódott. Ilyenkor ugyanis a szülők védelme és segítsége nélkülözhetlenné válhat az utódok számára.

Mivel a gondozás nagy költségekkel (pl. energia, idő, az adott időszakra elvesztegetett újrapárosodások száma) jár a szülők oldalán, ezért fejlett utódgondozó viselkedés csak olyan esetben alakulhat ki, ahol a szaporodási siker nagyobb mértékben növekszik a gondozás hatására, mint amekkora csökkenést jelent a későbbi szaporodás sikerére nézve a jelen ráfordítás. Csereviszony (trade-off) van tehát a gondozás és más aktivitások között.

Az utódgondozásnak nagy szerepe van továbbá a szexuális szelekcióban és az intrafamiális konfliktusokban is (Kokko & Jennions,

2008). Ez megnyilvánulhat egyrészt az utódgondozási rendszeren (egy- vagy mindkét szülő gondoz), de kétszülős gondozás esetén az egyes szülők ráfordításának mértékében is. Mindkét szülő saját fitnessének növelésében érdekelt az utódokon keresztül és sokszor érdekeik egymásnak ellentétesek. A hím optimális stratégiája legtöbbször az, hogy egyáltalán ne kelljen részt vennie az utódgondozásban, helyette minél több nőténnyel pározzon és így növelje reprodukív sikerét. A nőtények optimális stratégiája ezzel szemben az, hogy a hímet bevonják a munkába, ezzel véve le magukról a költségek egy részét, esetleg teljesen átruházzák a gondozást a hímre és továbbállhassanak újabb pár és újabb utód produkálásának reményében. Ez a jól ismert konfliktus az ún. szülő-szülő, vagy poszt-zigotikus szexuális konfliktus (vocs.zool.klte.hu).

Felmerül tehát a kérdés, hogy ki és mennyit gondozzon? Erre az állatvilág számos választ kínál. Míg halaknál sok esetben a hím gondozás a jellemző (pl. csikóhalak (*Hippocampus sp.*)), madaraknál a kétszülős utódgondozás a legelterjedtebb (fajok ~90%-ánál), emlősöknél pedig főként a nőtényekre hárul ez a feladat (Reynolds *et al.*, 2002). Gerinctelenek körében az utódgondozás főként az euszociális rovaroknál jelenik meg. Kétszülős utódgondozás ott várható, ahol a szülői összefogás növeli a túlélő utódok számát/minőségét, vagy ha a szülők újrapárosodásának esélye alacsony (Maynard Smith, 1977; Lessells, 1999). Egész életen át tartó monogámia kialakulására olyan esetekben számíthatunk, ahol a nemek közötti konfliktus a legalacsonyabb, vagyis ahol a két ivar jövőbeli érdekei megegyeznek.

Az utódgondozó viselkedésnek nagyon sok formáját különítjük el, melyek a szaporodás különböző stádiumaiban jelenhetnek meg, és ez kölcsönös kapcsolatban áll a párzasi rendszerek komplexitásával és sokféleségével (Székely *et al.*, 2000). Lehetnek különbségek mind a nevelés formájában, mind az időtartamában. Prenatális utódgondozásról akkor beszélhetünk, ha a szülői befektetés a megelőzi az utódok születését. Ilyen lehet pl. egy rovar esetében a peték biztonságos helyre lerakása, vagy akár a madarak fészeképítése.

Postnatális utódgondozásra rengeteg példát ismer a tudomány. Erre tökéletes példa az emlősök és madarak „tipikus” utódgondozó magatartása, amely az utódok etetését, védelmét és ivarérettséget elérő korig való gondozását foglalja magában. A természetben a szülői gondozásra a legkülönbözőbb stratégiák alakultak ki a taxonokon, fajokon belül. Néhány egészen extrém esetet is ismerünk, gondoljunk csak a tudomány számára jól ismert pipa békára (*Pipa pipa*), melynek nőstényei a hátuk bőrébe ágyazottan nevelik utódaikat, vagy a mézelő méh (*Apis mellifera*) fáradhatatlan nektárgyűjtésére és méhsejt felügyeletére, a bölcsőszájú halak (Cichlidae) szájban költésére vagy akár a pusztaityúkokra (Pteroclididae), amelyek hímjei naponta több kilométert repülnek oda-vissza azért, hogy utódaiknak a melltollaikban vizet szállítsanak (Cade & Maclean, 1967).

Az utódgondozás egy komplex és sokrétű folyamat, amelynek megértéséhez nem elég a ritualizált viselkedések vizsgálata, hanem a különböző viselkedési mechanizmusok háttérben húzódó neurohormonális hatások kutatása is elengedhetetlen.

2.2. A zebrapinty

A zebrapinty (*Taeniopygia guttata*) a díszpintyfélék (Estrildidae) családjához tartozó, kisméretű, Ausztráliában és Indonéziában széles körben elterjedt madár. Jelenlétét a kontinens területének 75%-án megfigyelték, amelyből legalább 45%-on költést is regisztráltak (Zann, 1996). Természetes élőhelye a füves pusztáktól egészen az erdőig terjed (Haddon, 1985). Legtöbbször nyílt sztyeppeken és bozótokban lelhető fel, ám kiválóan alkalmazkodott az emberek közelségéhez is, amelyből következtethetünk a faj széles körű ökológiai tényezőkhöz való alkalmazkodási és tűrés-képességeire (Zann, 1996). Bár ezeket a füves, bozotos élőhelyeket világviszonylatban csupán mérsékelten száraznak tekintjük, a klíma változékonysága miatt extrém időjárási körülmények jellemzik (Stafford Smith & Morton, 1990). Az esőzések mértéke és időzítése kiszámíthatatlan, így a száraz időszak időpontja illetve hossza sem prediktálható. Éppen ezért ezeknek a magevőknek, mint más hasonló környezetben élő társaiknak,

fontosak a nedves foltok, ahol táplálékot és búvó-, illetve költőhelyet találhatnak az aszályos időszakban is, emellett pedig nyílt vízfelületre is szükségük van ivóvízszükségletük fedezésére. Elegendő táplálék és víz esetén folyamatos a költés és utódnevelés, bár a tavaszi időszakban valamivel intenzívebb a reprodukció (Zann, 1996). A források csökkenésével a szaporodás mértéke is csökken.

A zebrapintyek vadon hatalmas méretű kolóniákban élnek, amelyek mérete elérheti a 90-300 egyedet is (Goodson, 2005). A kolóniák mérete és összetétele az év során változik. A zebrapinty szociálisan monogám, ám ha társa elpusztul új párt választ magának (Zann, 1996). A szociális kapcsolatok nagyon fontosak e faj számára, és a laborban mesterségesen összepárosított madarak hím egyedei is hasonló intenzitással udvarolnak párjuknak, mintha természetes úton választották volna egymást (Ihle *et al.*, 2015). Továbbá szaporodási időszakon kívül is elválaszthatatlanok (Zann, 1996) és azonos nemű egyedekkel is képesek olyan szoros kapcsolatot kiépíteni, amelyet egy ellenkező nemű egyed megjelenése sem képes felbontani (Elie *et al.*, 2011).

Kétszülős gondozás jellemzi őket, ami azt jelenti, hogy mind a tojó, mind a hím részt vesz a fészkek felépítésében, karbantartásában, a kotlásban (inkubációban) majd a kikelt fiókák etetésében és gondozásában. Kotlófoltot azonban csak a tojók növesztenek, ám ez szerkezetében (főként vaszkularizációjában) különbözik a legtöbb madárfajban megfigyelttől (Zann, 1996). Zann és Rossetto (1991) kutatásai alapján a hímek esetében a kotlófolt hiánya nem befolyásolja a melengetési képességüket, ám egy friss kutatás szerint tojók hatékonyabb hőtranszfert érnek el a kotlófoltjuknak köszönhetően (Hill *et al.*, 2014). Vadon élő és vadbefogott pároknál a napi inkubáció aránya nem különbözik a nemek között (Zann & Rossetto, 1991), ezzel szemben a domesztikált pároknál a tojók befektetett energiája szignifikánsan nagyobb, bár nagy a variancia a különböző párok között (El-Wailly, 1996; Delesalle, 1986; Morvai *et al.*, 2016). Egy fészkealjban átlagosan 5 tojás található, de vadon magas a mortalitás embriók és fiókák esetében is, a fészkek kevesebb, mint feléből repül ki fióka (Zann, 1996). A predáció csökkentésére használt fészekdobozokkal ezt a számot csupán 53%-ig sikerült emelni (Griffith *et al.*, 2008).

A fiatal egyedek leghamarabb 50-60 naposan állnak párba és 90 napos korukra válnak ivaréretté, ezért sokszor a tavaszi időszakban kelt egyedek ősszel már szaporodnak is (Zann, 1996). A zebrapintyek, mint a legtöbb kis méretű énekes, a szaporodásuk tojásrakási stádiuma alatt napi egy tojást raknak. Két-három nap költési aszinkronitás jellemző a fogságban tartott madaraknál, mert a kotlást általában csak a második vagy harmadik lerakott tojás után kezdik meg. Az inkubáció általában 11-15 napig tart, a kirepülésig pedig kb. 19 nap szükséges (Zann, 1996). Amíg vadon a fiókák kikelése általában 2 napot vesz igénybe (fészekalj mérettől függően), a fogságban tartott madaraknál ez általában napi 1 kelésre csökken, így a fiókák mérete jelentősen eltérhet egy fészken belül (Zann, 1996).

Laboratóriumban kísérleti céllal tartott madárfajok közül a zebrapinty az egyik legnépszerűbb a házityúk (*Gallus gallus domesticus*) és a japán fürj (*Coturnix japonica*) mellett. Ez utóbbi kettővel szemben a zebrapintyek számos előnnyel rendelkeznek: ilyen a kis termetük, amely lehetővé teszi nagy állományok tartását viszonylag kis helyen; opportunista szaporodásmódjuk, amely nem a fotoperiódusokhoz, hanem a csapadék és táplálék mennyiségéhez kötött; igénytelenségük, illetve a viszonylag rövid és gyors életmenetük.

Emellett bár gonádjaikban változás mutatható ki a környezeti feltételektől függően, azok sosem fejlődnek vissza teljesen és gyors válaszra képesek a feltételek javulása mellett (Harding & Rowe, 2003), így szaporodásuk laboratóriumi körülmények között egész évben szinten tartható és folyamatos lehet (Zann, 1996). Rugalmasságuk és alkalmazkodó képességük miatt úgy gondolták, hogy ember közelségében, folyamatos labori zavarás mellett is szívesen szaporodnak (Zann, 1996), de frissebb kutatások azt mutatják, hogy a mesterségesen párosított tojók csupán 64%-a költ (Griffith *et al.*, 2017).

A könnyű tartásuk, kétszülős utódgondozásuk és csoportos életmódjuk miatt fontos modellállatai a viselkedési és neurológiai kísérleteknek egyaránt, illetve a teljes genomjuk ismeretében a genomikai kutatásokban is egyre fontosabb szerepet töltenek be (Klatt & Goodson, 2013;

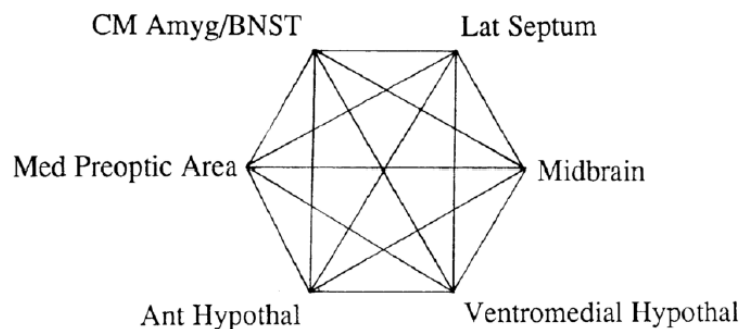
Leung *et al.*, 2011). Idegrendszerük vizsgálata során nagy hangsúlyt fektetnek az ének tanulás mechanizmusának felderítésére. Szociális életmódjuk és párba állási képességük miatt pedig fontos modellként szolgálnak a szociális viselkedési formák, illetve az agy szociális hálózatának működésének felderítésében is.

Az előzőekben összefoglaltak alapján felmerülhet a kérdés, hogy vajon a vadon élő és domesztikált, fogságban tartott zebrapintyek között milyen különbségek lehettek fel. Emellett kérdés, hogy ezek a különbségek mennyire jelentősek, azaz mennyire általánosíthatók az egyiken vagy épp másikon végzett kísérletek eredményei a teljes fajra? Forstmeier és munkatársai (2007) bemutatták, hogy ugyan a világszerte laboratóriumban tartott pintyek genetikai változatossága valamivel csökkent vadon élő társaikhoz képest, továbbra is nagyfokú genetikai polimorfizmust mutatnak a populációik; arra azonban figyelemmel kell lennie minden zebrapintyet használó kutatócsoportnak, hogy ezek az egyedek honnan származnak, ugyanis az észak-amerikai és európai populációk között jelentős különbségek fedezhetők fel. Ezek a különbségek befolyásolhatják egyes kutatások kimenetelét, illetve magyarázatot adhatnak arra, hogy esetlegesen miért nem vezetnek ugyanarra az eredményre a különböző kontinenseken megismételt kísérletek.

2.3. Az agy szociális hálózata (SBN)

A szociális hálózatot (más néven social behavior network, vagy SBN) először Newman (1999) fedezte fel, aki kutatásai során felfigyelt arra, hogy emlősökben vannak olyan agyterületek, amelyek nem külön-külön, hanem egyfajta hálózatként működnek együtt azért, hogy különböző szociális folyamatokat szabályozzanak. Mindkét nem szociális viselkedését kutatva, különböző módszerekkel (lézió, elektromos stimuláció, hormon manipuláció stb.) végzett kutatások eredményei által arra a következtetésre jutott, hogy az agy limbikus területeinek egy része felelős a különböző szociális viselkedésekért. Ilyen viselkedésnek tekintjük többek között az utódgondozást, anyai agressziót, szexuális viselkedések sorozatát, territórium

védést és jelölést, illetve az ezzel járó agressziót. A fent említett limbikus terület régiói a mediális kiterjesztett amygdala (mediális amygdala [MeA] és a mediális bed nucleus of the stria terminalis [BSTm]), laterális septum (LS), mediális preopticus area (mPOA), anterior hypothalamus (AH), ventromediális hypothalamus (VMH), illetve a középgy periaqueductalis szürkeállománya (PAG) és a szomszédos tegumentális területek. (1. ábra) Newman szerint az alábbi területek egy hálózatot alkotnak, amely a szexuális szteroidok által szabályozott szociális viselkedések létrehozásában és szabályozásában vesz részt.



1. ábra Az agy szociális hálózatának részei Newman szerint (1999) - BSTm, LS, középgy, ventromediális hypothalamus, AH, mPOA.

A fent említett területek mindegyike kölcsönös kapcsolatban áll minden más szociális hálózati csomóponttal, a bennük található neuronok gonadális hormon receptort tartalmaznak és ezen felül mindegyikük egynél több viselkedési mintázat aktivációjában vagy szabályozásában vesz részt (Goodson, 2005). Ezek a viselkedések az alábbiak: agresszió, szexuális viselkedések, kommunikáció különböző formái, szociális felismerés, szociális kötődés, kapcsolatépítés, szülői viselkedés és stresszorokra való reagálás (Kirkpatrick *et al.*, 1994; Kollack-Walker & Newman, 1995; Bamshad & Albers, 1996; Coolen *et al.*, 1997; Kollack-Walker *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 1997; Lonstein *et al.*, 1998; Morgan *et al.*, 1999; Delville *et al.*, 2000; Kalinichev *et al.*, 2000; Gammie & Nelson, 2001; Heeb & Yahr, 2001; Sheehan *et al.*, 2001; Ferguson *et al.*, 2002; Cushing *et al.*, 2003; Lim & Young, 2004). A fent említett agyi csomópontokon kívül más területek is szerepet játszanak az emlősök agyában a szociális viselkedések kialakításában (pl. stressz-jutalom központok) így a Newman által leírt

hálózatot a szociális agy központi magjának kell tekintenünk, nem teljes egészének (Goodson, 2005).

Newman továbbá azt is feltételezte, hogy egy adott szociális viselkedés komplexitása nem a hozzá tartozó csomópont ki- vagy bekapcsolt állapotától függ, hanem a hálózat csomópontjainak aktivációs mintázatától.

O'Connell és Hofmann (2012) egy átfogó kutatás során azt találták, hogy az agy szociális viselkedés és döntéshozó hálózata nagyon konzervatív evolúciós szempontból. Emellett arra is rámutattak, hogy különböző agyi régiók neuroendokrin ligandjainak térbeli eloszlása gerinces taxonok között jóval változatosabb, mint a hozzájuk tartozó receptorok eloszlása. A szociális hálózat vizsgált régiói közül a hypothalamus preoptikus területe (POA) illetve az amygdala basolaterális része (blAMY) voltak a legkonzervatívabbak, amíg a striátum (Str) a legkevésbé konzervatív.

A különböző agyterületek hormonális érzékenysége függ az állat nemétől és korától is. Az eltérő területeken megjelenő szex hormonok mennyisége és minősége által a szociális hálózat szexuálisan dimorfá válik, azaz a specifikus sejtek és sejtípusok mennyisége az adott csomópontokban el tér a nemek között. A különböző hormonok mennyisége és a rájuk vonatkozó érzékenysége az idegi összeköttetések mennyiségével együtt változik az élet során. Hosszútávon ez a változás főként a szexuális érettséggel, a tanulási tapasztalattal, öregedéssel, az év során változó reprodukciós ciklussal hozható összefüggésbe. Ez utóbbira példa sok énekesmadár esetén a hímek énekléshez kapcsolható agyi területei neuron sűrűségének növekedése az udvarlási időszakban, pl. a zebra pinty hímjeiben a HVC mérete megközelítőleg három-hatszorosa a tojókének, emellett Area X-et a tojóknál nem sikerült felfedezni (Nottebohm & Arnold, 1976). Rövidebb távon a hormonszintek változása összefüggésbe hozható konkrét szociális eseményekkel, pl. egy másik jelenlévő egyed szagából, hangjából, mozgásából stb. származó stimulusok által, amelyek azonnali változást hoznak létre a szociális hálózat csomópontjainak aktivitásában. Az eltérő stimulusokra adott legjellemzőbb szociális válasz az, amely az évmilliók során az evolúció által részben gének által öröklött és így

meghatározott, részben pedig egyedfejlődés által befolyásolt és tanult magatartásforma.

Goodson (2005) kiterjesztette Newman emlősökre írt szociális hálózatának elképzelését más gerincesekre is, amelyet többek között a már feljebb említett evolúciós konzervativitás tett lehetővé. A hálózat elképzelésének kiterjesztését főként a madarak és emlősök szociális hálózatának nagyfokú hasonlósága engedi, mind idegi összeköttetésekben, mind hisztokémiájukban és szex szteroid receptoraik elhelyezkedésében. Ezt a kiterjesztést más gerinces taxonokra (halak, kétéltűek és hüllők) is megteszi.

Az anyai adaptáció mechanizmusai meglepően felderítetlen területnek számítanak a neurokémiaiban, az azonban biztos, hogy a szabályozásuk igen komplex, sok különböző hormon és agyterületet foglal magába. Ezen adaptációk fő koordinációja a központi idegrendszerben történik, azon belül is a POA-nak van hatalmas szerepe, ugyanis kölykök hatására ez a terület mutatja a legjelentősebb aktivációt (Dobolyi, 2009), illetve lézió hatására megszűnik a gondozó viselkedés (Dobolyi, 2009).

2.4. Amylin

Az amylin, islet amyloid polypeptide (IAPP), vagy szigetsejt-amyloid polipeptid egy 37 aminosavból álló peptid, amelyet 1986-ban fedeztek fel (Westermarck *et al.*, 1986). A hasnyálmirigyből inzulinnal együtt szabadul fel, emiatt főként az étkezésre és vércukorszintre gyakorolt hatását kutatták eddig. 1-es és 2-es típusú cukorbetegség kezelésekor inzulin mellett egy pramlintide nevű analógját is sok helyen alkalmazzák (Hay *et al.*, 2015). A glükózanyagcserében folytatott szerepe mellett a kardiovaszkuláris és csontanyagcserével kapcsolatos szabályozásban is szerepet kap (Hay *et al.*, 2015).

Perifériás hormonként régóta ismert, központi idegrendszerben történő expresszióját nemrég mutatták ki laktáló patkányok agyának preopticus területén (POA) (Dobolyi, 2009).

Rágcsálókön végzett kutatásokból kiderült, hogy az amylin receptorai és mRNS-e többek között a hypothalamus (Hth) több területén is megtalálhatók (Becskei *et al.*, 2004; Sexton *et al.*, 1994), pl. POA, nucleus arcuatus (Arc), nucleus ventromedialis (VMH), nucleus dorsomedialis (DMH) stb. (Stachinak & Krukoff, 2003).

A hypothalamus preoptikus területéről ismert, hogy sejtjei fokozzák működésüket patkány anyákban (a szülés utáni 9. napon 25-szörös emelkedést mutat az mRNS expressziója), míg az agyterület sérülése után az anyák nem gondozzák kicsinyeiket (Dobolyi, 2009). Emellett azt is kimutatták, hogy ha szülés után azonnal elveszük a kicsiket az anyáktól a preopticus területen nem következik be amylin expresszió (Dobolyi, 2009). *In situ* hibridizációval sikerült ezeket a génexpressziós eredményeket megerősíteni, illetve az amylin mRNS-t expresszáló neuronok elhelyezkedését is leírták a preopticus területen (Dobolyi, 2009).

Anyá patkányokban és szentizált szűz patkányokban az amylin-neuronok a POA-n belül csak az anyai viselkedés során aktív magokban található (mediális preopticus mag (MPN), mPOA egyes területei, BSTm ventrális része). Laktáló anyákban a központi idegrendszer más területein nem volt megtalálható (Dobolyi, 2009).

Az amylin anyai viselkedésben betöltött szerepére bizonyíték az expressziójának helye illetve körülményei: szülés után kölyköktől megfosztott anyákban, valamint szűz nőtényekben nincs jelen, de szülést követően a 9. napon kimutatható magas expressziója laktáló anyákban (Dobolyi, 2009). Emellett fontos bizonyíték még, hogy a központi idegrendszerben csak a mPOA területén jelenik meg, amely az anyai viselkedés szabályozó központja (Numan, 2012).

3. Célkitűzések

Az általunk vizsgált polipeptid, az amylin, utódgondozásban, ezen belül is az anyai gondozásban betöltött szerepe csak néhány éve került leírásra (Dobolyi, 2009). Mivel az előzetes kutatások mind emlősökön, ezen belül is rágcsálókön készültek, mi kíváncsiak voltunk, hogy madarak agyában hol és hogyan jelenik meg ez a peptid.

Céljaink között szerepelt az amylin utódgondozó viselkedésben (kotlás és fióka etetés) betöltött szerepének felderítése *in situ* amylin próbával, emellett az ivarok viselkedésének összehasonlítása az utódgondozás két szakaszában.

4. Anyag és módszer

4.1. Vizsgálati populáció és tartási körülmények

Adult egyedeket használtunk az Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE) Etológia Tanszékének állatházából. Az itt élő populációt a német Bielefeld Egyetem házasított egyedeiből alapították.

A madarak két természetesen és mesterségesen megvilágított helyiségben helyezkednek el, nemenként elkülönítve egy-egy 1,5 x 2,4 x 2 m-es aviáriumban, ahol az aktuálisan nem szaporodó állomány található (röpdénként kb. 100 egyed). Ezek a madarak audiovizuális ingerek szempontjából együtt vannak tartva, ám fizikailag csak azonos ivarú egyedek érintkezhetnek. A kísérletben használt adult madarak random lettek kiválasztva, figyelve arra, hogy közel rokonok ne kerüljenek össze. A legtöbbben már tapasztalt szülők voltak.

A madarak mindegyikét számozott alumínium gyűrűvel láttuk el (Principle Kft., Újlengyel, Magyarország) az egyedi azonosítás érdekében. A hímeket és tojókat random módon párosítottuk, majd 100 x 30 x 35 cm méretű ketrecekben lettek elhelyezve, amelyeken egy fa költőládát (12 x 12 x 12 cm) helyeztünk el kívülről. A fészekrakáshoz alapanyagként kókusz háncsot kaptak. Időzítőhöz kötött teljes fényspektrumú fénycsővel (NASLI, Prága, Csehország) 14:10-es fény-sötét ciklust tartottunk fent (lámpák helyi

idő szerint 6:00-kor kapcsoltak fel). A hőmérsékletet a teremben légkondicionálóval konstans 20-21 °C fokra állítottuk be.

A madaraknak *ad libitum* hozzáférése volt mind táplálékhoz, mind naponta cserélt vízhez. A táplálékként szolgáltatott magkeverék egyenlő arányban tartalmazott három féle kölest (*Panicum miliaceum luteum*, *P. miliaceum rubrum*, *P. italicum*), fénymagot (*Phalaris canariensis*) és kis mennyiségű (kevesebb, mint 1%) négermagot (*Guizotia abyssinica*). Továbbá minden nap el lettek látva lágyeleséggel (Egg food tropical finches, Orlux, Versele-Laga, Belgium) illetve a fent leírt keverékből házilag csíráztatott magvakkal a megfelelő fehérje és vitamin szükséglet ellátására. Emellett apró szemű sódert kapnak alomként. (Morvai *et al.*, 2016)

A kísérlet során négy különböző csoportot különböztettünk meg: aviáriumi kontroll, párbaállított kontroll, inkubáló és etető. Az aviáriumi kontroll madarai közvetlenül a fent említett röpdékből lettek kiválasztva. A párba állított kontroll egyedei átkerültek a szintén fent említett ketrecekbe, ám nem kaptak sem kókuszháncsot, sem fészekdobozt, így a szaporodásuk gátolva volt. A maradék két csoport számára párba állítás után megfelelő körülményeket biztosítottunk a szaporodáshoz.

4.2. Szülői viselkedés felvétele

A szülői viselkedést a költőládák tetejére helyezett automatizált digitális kamerákkal (Mobius Action Cam, JooVuu Store, UK) vettük fel széles látószögű objektívekkel (116°), amely lehetővé tette, hogy majdnem a teljes fészekdoboz látszódjon, így segítve a viselkedés pontos megfigyelését.

A populációnkban a fiókák kikelése a kotlás 13-14. napjától kezdődik, amelyet kb. 20 napnyi gondozás követ a kirepülésig. Emiatt a videó felvételeket a költés, inkubáció megkezdésétől számított 8. illetve az etetés, (azaz az első fióka kikelésétől számított) 10. napján készítettük (Morvai *et al.*, 2016). A 3 órás videó felvételeket minden alkalommal 10:00-13:00 között készítettük. A költőládákat két naponta monitoroztuk a tojás rakás, kotlás, illetve kikelés megkezdésének meghatározására. Az inkubáció kezdetének

pontos időpontját a tojások lámpázásával állapítottuk meg. A kikelés napjának meghatározásában a fiókák mérete segített.

A fészekalj szaporodási állapotát az első fióka kikelésétől tekintettük kelés utáninak.

A kamerák színes, full HD videót készítettek alacsony fényintenzitás mellett is, így az elkészült felvételek jó minősége miatt a szülők neme és viselkedési mintázatai jól meghatározhatók voltak.

Amikor épp nem készült felvétel, a kamerákat a fészekdobozok tetején velük egyen méretű, fából készült álkamerákkal helyettesítettük, amelyek úgy lettek megfestve, hogy a valódi Mobius kamerákat utánozzák, így segítve elő a madarak habituációját az idegen tárgyhoz. A felvétel előtti napon az álkamerát lecseréltük a valódi kamerára, amely lencséje a ládák tetejébe fűrt lyukba illeszkedett. A kamerát aztán időzítőhöz kötöttük és beprogramoztuk a felvétel idejére, majd külső áramforráshoz csatlakoztattuk. A felvételek időtartama alatt senki sem tartózkodhatott a teremben. Az álkamerák és időzítők használata biztosította, hogy az elkészült felvételek teljes egészét fel tudjuk használni, hisz így nem érte a madarakat semmiféle zavarás felvétel közben. (Murphy, Chutter & Redmond, 2015)

A lehetséges adatvesztés elkerülése érdekében a kamerák úgy lettek beprogramozva, hogy 4 GB-os darabokban (maximum beállítás hossza tekintve) mentsek a felvételeket .mov formátumban egy 64 GB-os microSD kártyára.

A viselkedést vizsgáló videók 2015. január és május között készültek. Összesen 16 videót vettünk fel ehhez a kísérlethez, ebből 9 az inkubációról és 7 az etetési stádiumról készült.

4.3. Viselkedés kódolása

A felvételeket Solomon Coder (v 16.16.26, Péter András által fejlesztve [¹]) segítségével kódoltuk. Ez a program egy videó-, egy kódoló lap elven működik, így az első lépés a videók feldolgozásában a 4 GB-os darabok összefűzése volt egy fájlra, amelyet QuickTime Player programmal végeztünk (v. 7.7.8, Apple Inc.) és .mov formátumban tároltunk.

A felvételekből az alábbi viselkedéseket kódoltuk nemenként: fészekben tartózkodás, inkubáció vagy fiókák melengetése illetve a felvételtől függően etetés. A madarat akkor tekintettük a fészekben tartózkodónak, ha a testének bármelyik része a felvételen volt, de nem volt a tojások vagy fiókák felett. Inkubációnak vagy melengetésnek tekintettük, ha a madár a tojásokon vagy a fiókák felett ült, testi kontaktot létesített velük. Ha a fészekben egyszerre tartózkodott a két szülő, szorosan a tojások vagy fiókák felett elhelyezkedő párja mellett, mindkét egyedet inkubálónak/melengetőnek kódoltuk, mert a test hője valószínűleg hozzájárult a folyamathoz.

Ezek mellett nemenként kódoltuk még az alábbiakat: saját maguk tollászása, a párjuk tollászása, fészeképítés, illetve tojások forgatása vagy fiókák tollászása. Később, az analízis során a tojások forgatásának nehéz megállapíthatósága miatt ezt a változót nem analizáltuk.

Az összes videó viselkedési kódolását én végeztem egy előre megbeszélte kódolási protokoll alapján, ezzel kizárva az esetleges inter-observer hibát.

4.4. Agyak gyűjtése és feldolgozása

Az agyak a videók elkészülte után a 9., illetve a fióka nevelési stádiumban levő egyedeknél a 11. napon kerültek eltávolításra. A procedúrát az ELTE Állatházában végezték, délután kettő és három óra között. Az időpont választás a már előzőleg említett felvételek időpontja (10:00-13:00) miatt volt fontos, hogy ezzel is biztosítsuk a videók zavartalanságát, mert a

¹ Péter A. Solomon Coder: a simple solution for behavior coding. v 15.11.19. 2015; URL: <http://solomoncoder.com/>

kísérletekben szereplő összes egyed egy teremben van elhelyezve. Az időpont meghatározásában szerepet játszott továbbá, hogy az agyak eltávolítása más kísérletekhez szintén felhasznált madarak dekapitálásával egy időben történt, ezekben a kísérletekben a vizsgált hormonok napi változást mutathattak.

A ketrecből eltávolított egyedek tömege, tarsus- és szárnyhossza lemérésre került, illetve a dekapitáció után vért vettek az arteria carotisból. A lágy koponyát a foramen magnumból indulva a hosszanti hasadék (*fissura longitudinalis cerebri*) mentén felvágták, majd a két felét óvatosan eltávolították. Az agy óvatos kiemelése után szárazjégen hirtelen lefagyasztásra került, majd -80 C°-on tároltuk további feldolgozásig. A szülők nélkül maradt fiókák 11 napos korukban még életképtelenek, így az ő agyuk is eltávolításra és fagyasztással raktározásra került későbbi kutatások céljából (Udvardy, 2016).

4.5. *In situ* hibridizáció amylin próbával

Az amylin *in situ* hibridizációs kimutatását Dobolyi Árpád és kutatócsoportja végezte a Semmelweis Egyetem Anatómiai, Szövetani és Fejlődéstani Intézetében a Dobolyi és Palkovits (2008) által előzőleg leírt módszer alapján.

4.6. Kvantifikáció

Az agyak megfelelő régióiról sötétlátóteres mikroszkóppal készítettünk felvételeket. A befotózott régiók a következők voltak: medialis striatum (mst), Area X (X) nucleus accumbens (NAcc), mPOA, lateralis hipothalamus (LHy), higher vocal center (HVC), nucleus intercollicularis (ICo). A vizsgált régiók előzetes ismereteink alapján mind a szociális döntéshozó hálózat részét képezik, pl. a medialis striatum úgynevezett mozgás iniciátor régió, tanulásért felelős, az Area X és a HVC pedig fontos szerepet tölt be a madarak énektanulásában.

Az elkészült képek feldolgozása és kvantifikációja ImageJ programmal (Schindelin, J; Rueden, C. T. & Hiner, M. C. *et al.*, 2015) történt. A beolvasott képeket szürkeárnyalatossá tettük, majd ahol lehetett

sejtszámlálás történt (pl. HVC), ahol kevésbé voltak jól elkülöníthetőek a jelölt sejtek, ott denzitás mérést végeztünk. Mivel a háttérjelölődés erősségének különbségei miatt küszöb (threshold) érték beállítása erősen szubjektív lett volna, így az egyforma fotózási paraméterekkel készült képeken mean gray value-t (MGV), azaz átlagos szürkeséget mértünk, ami jól jellemezte az *in situ* jel erősségét. A denzitás mérés esetén a vizsgált régió MGV-jéből egy közeli, hasonló méretű, specifikus jelölődést nem mutató kontroll régió MGV-jét kivontuk, így kontrollálva a háttérjelölődés esetleges különbségeire.

5. Statisztika

A statisztikai elemzéshez az R program 3.3.3 verzióját használtam. A statisztikai analízis alapvetően a kezelési csoportok (szaporodási stádiumok), nemek és az expresszió mértékének összehasonlításán alapult.

Az agyak vizsgálatakor a jobb és bal féltekén mért eredményeket átlagoltuk, így minden területre egy értékkel végeztük a statisztikai elemzéseket.

Mivel a mintaelemszámunk az *in situ* vizsgálat időigénye és költségei miatt nagyon alacsony volt, ezért a két kontrollt (aviáriumi és párba állított) illetve a két gondozó csoportot (kötő és etető) összevontuk és főként a nemek közötti különbségekre koncentráltunk. Emellett a viselkedési adatok közül is összevontuk a kötést, fészekben tartózkodás, illetve az etetési stádiumban készült videók esetén az etetés változókat is, és így egy összevont „fészeklátogatás” (attendance) időtartam értéket kapva számoltunk. Természetesen a kontrollok esetén ennek az értéke 0 volt, így ezt csupán a nemek és agyterületek függvényében tudtuk vizsgálni.

Az agyterületek és amylin expresszióját jelölő denzitás vagy sejtszám értékekkel illetve a gondozási csoportok és nemek szerint Pearson korrelációt, lineáris modelleket illetve kétmintás t-teszteket végeztünk el.

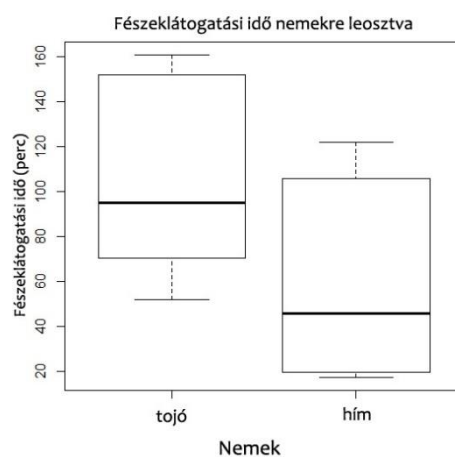
6. Eredmények

A kutatásunk során a legnagyobb különbséget a kontroll és gondozó csoport között vártuk, ám annak nem volt hatása. Helyette a nemek közötti különbség bizonyult jelentősnek. A számításaink során azokra az agyterületekre koncentráltunk, ahol találtunk különbséget a nemek között, így ebben a dolgozatban is ezeket prezentálom.

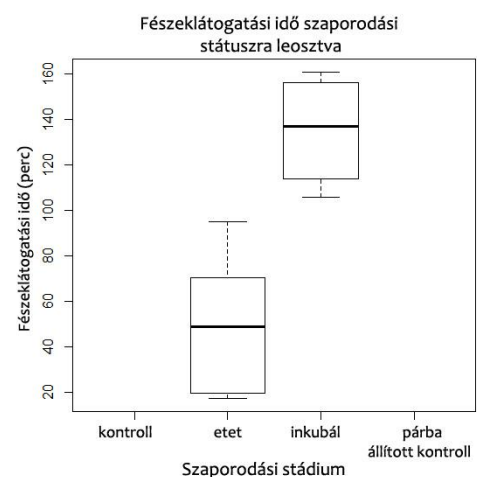
Fontos azonban megjegyezni, hogy az általunk kapott eredmények mindenképpen csak előzetes eredményeknek számítanak, hiszen az alacsony mintaelemszámok miatt messzemenő következtetéseket nem vonhatunk le.

6.1. Viselkedés analízise

A fészeklátogatással töltött idő vizsgálatakor nemek között illetve a szaporodási stádiumokat összehasonlítva is azt az eredményt kaptuk, hogy összességében a vizsgálati populációnkban a tojók voltak az aktívabb gondozók (2. ábra). Emellett (nem meglepő módon) az inkubációs stádium alatt az össz. szülői gondozás mértéke jóval magasabb volt, mint az etetési stádiumban (3. ábra), hiszen ez utóbbi esetben már nem tartózkodik valamelyik szülő folyamatosan a fészeken, ugyanis a fiókák nem szorulnak folyamatos melengetésre.



2. ábra Fészeklátogatási idő (perc) nemekre leosztva (N=10)



3. ábra Fészeklátogatási idő (perc) szaporodási stádiumra leosztva (N=10)

Természetesen a két kontroll esetében nem volt gondozás, hiszen utód sem volt, amelyet gondozhattak volna.

6.2. Agyterületek vizsgálata

6.2.1. Amylin expresszió a gondozási csoportok között

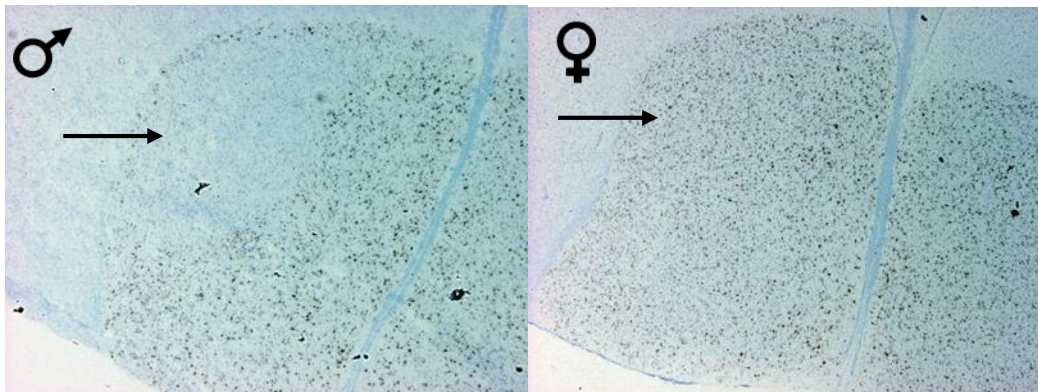
Az előzetesen vártakkal ellentétben az amylin expressziója és a kísérleti csoportok (gondozó - nem gondozó) között nem találtunk jelentős különbséget (1. táblázat).

1. táblázat Az agyterületek és az amylin átlagos expressziójának összehasonlítása gondozó és nem gondozó szap. stádiumban

Agyterület	Átlagos aktivitás		t	df	p
	gondozó	nem gondozó			
AreaX	61.362	52.131	0.598	14.618	0.559
MST	71.573	68.404	0.283	14.322	0.781
NAcc	87.949	88.113	-0.009	10.031	0.993
mPOA	7.350	8.000	-0.205	7.443	0.843
Ihy	5.777	5.500	0.288	12.299	0.778
HVC	11.000	5.333	1.222	5.687	0.270
ICo	11.107	7.709	1.544	11.104	0.151

6.2.2. Amylin expresszió a nemek között

Megvizsgáltuk az amylin expressziója és a nemek közti kapcsolatot is lineáris modellekkel. Ebben az esetben várakozásnak megfelelően találtunk különbségeket néhány agyterületben, ám nem a szülői viselkedésért felelős mPOA területén volt a legszembetűnőbb a különbség, hanem az Area X esetén. Ez a különbség az amylin expresszáló sejtek számában szabad szemmel is jól látható volt (5. ábra).



2. ábra Amylin expresszió egy hím (baloldali kép) illetve egy tojó (jobboldali kép) Area X agyterületén

Az expresszió mértékében a legnagyobb különbséget a főként énektanulásért felelős Area X (41.673 ± 13.45 SE, p -érték= 0.24), az anyai viselkedéssel, illetve jutalmazással kapcsolatba hozott NAcc (106.58 ± 14.56 , p -érték= 0.0162) és a szintén gondozó viselkedésért felelős mPOA (10 ± 2.511 , p -érték= 0.0582) területen sikerült kimutatni, bár ez utóbbi még éppen nem szignifikáns (3. táblázat).

2. táblázat Amylin expressziója és nemek közötti kapcsolat lineáris modellek alapján

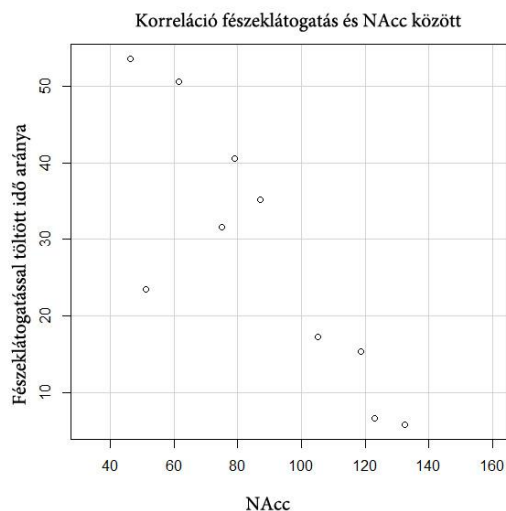
Agyterület	B ± SE	t	df	p
AreaX	41.673±13.45	-2.51	15	0.024
MST	73.765±11.243	0.661	15	0.519
NAcc	106.58±14.56	2.708	15	0.016
mPOA	10±2.511	2.077	13	0.058
Ihy	5.167±1.046	-1.195	13	0.253
HVC	4.4±4.248	-1.514	9	0.164
ICo	10.22±2.439	0.613	13	0.550

6.3. Amylin expresszió és az utódgondozás összefüggései

Az amylin expresszió és az agyterületek között csupán a NAcc esetén volt szignifikáns negatív korreláció (p -érték= 0.002, Pearson cor = -0.840) (2. táblázat; 4. ábra). Emellett a mPOA esetén egy negatív korrelációs trend mutatkozott (p -érték= 0.071, Pearson cor = -0.593) (2. táblázat). Az Area X esetén nem találtunk kapcsolatot (p -érték= 0.7, Pearson cor = 0.14).

3. táblázat Vizsgált agyterületek és a fészeklátogatási idő korrelációi

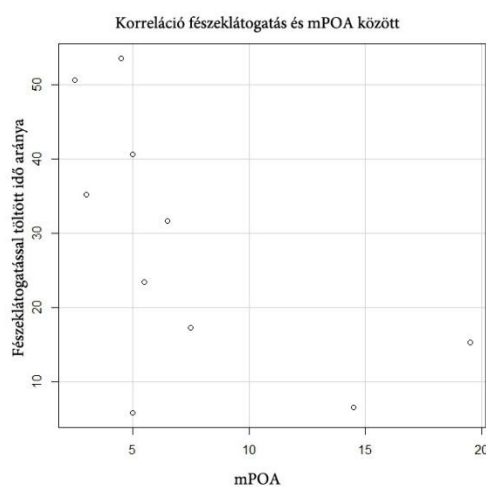
Agyterület	Pearson r	t	df	p
AreaX	0.140	0.399	8	0.700
MST	-0.147	-0.421	8	0.685
NAcc	-0.840	-4.372	8	0.002
mPOA	-0.593	-2.082	8	0.071
Ihy	-0.263	-0.721	7	0.495
HVC	0.586	1.252	3	0.299
ICo	0.145	0.359	6	0.732



3. ábra Negatív korreláció a fészeklátogatással töltött idő és az amylin expresszió között a NAcc-ben

4. ábra Negatív korrelációs tendencia a fészeklátogatással töltött idő és az amylin expresszió között POA-ban

Fontos azonban megjegyezni, hogy az expresszió mértéke agyterületen és nemeken belül is nagy variabilitást mutatott az egyedek között (ld. mellékletben), illetve a rendelkezésre álló mintaelemszám növelésével a jelenleg feltárt erősebb összefüggések mellett gyengébb kapcsolatok is mutatkoznának.



7. Diszkusszió

Az amylin expresszióját madarakban, azokon belül is zebra pintyekben az utódgondozási viselkedéssel kapcsolatban tudomásunk szerint még nem vizsgálták, éppen ezért kutatásunk ebből a szempontból teljes mértékben újdonság.

Kutatásunk az amylin peptid szaporodási stádiumban bekövetkező eloszlásbeli változásait volt hivatott felderíteni a szociális viselkedés szempontjából releváns agyterületeken. Az itt bemutatott vizsgálatunk során a legnagyobb különbséget az előzetes, patkányokon végzett kísérletek eredményét látva (Dobolyi, 2009), a gondozó illetve nem gondozó csoportok

között vártuk. Ezzel szemben nem találtunk kapcsolatot a szaporodási stádiumok és az agyi expresszió között, ám ivari különbségeket az expresszió mértékében bizonyos agyterületeken feltártunk.

Az, hogy a kontroll és a gondozó csoportok között nem sikerült különbséget kimutatni eredhet abból, hogy az egyedek között nagy volt a változatosság. A vazotocin receptorok mRNS eloszlásában nagy intraspecifikus különbségeket írtak le zebra-pintyeknél (Leung et al., 2011), így nem zárható ki, hogy a mi esetünkben az amylin esetén is hasonló a helyzet. Előfordulhat az is, hogy a peptidek mennyiségének gyors időbeli változása miatt a magas egyedi változatosság elfedi a szaporodási stádium hatását.

Az agyi aktivitás és az amylin expresszió között főként ivari különbségeket találtunk. Ez potenciálisan párhuzamba hozható a Dobolyi (2009) által anyapatkányokban megfigyeltekkel, ott ugyanis hím patkányokban egyáltalán nem figyeltek meg amylin expressziót, illetve az expressziót főként a laktáláshoz és a kölykök által kiváltott stimulushoz kötötték. A mi kutatásunkban a madarak anatómiai és élettani jellemzői szoptatással ugyan nem, de valamiféle anyai stimulussal esetleg kapcsolatban lehet az amylin expressziója.

Érdekes továbbá az, hogy ugyan az Area X-ben jelentős szexuális különbséget tudtunk kimutatni, és a számításaink alapján a gondozáshoz is szignifikáns kapcsolat köti, a kettő között korrelációt nem sikerült kimutatnunk. Az Area X fő feladata az énektanulásban van, és szoros összeköttetésben működik a HVC-vel, amelyben az amylin expresszió és a gondozás között semmiféle kapcsolatot nem találtunk. Zebra-pintyek tojóiban Area X-et nem sikerült elkülöníteni még tesztoszteron kezelés után sem (Nottebohm & Arnold, 1976), így előfordulhat, hogy az általunk talált látványos szexuális különbség az amylin expresszióban ehhez köthető.

Az mPOA esetén nem tudtunk egyértelműen szignifikáns különbségeket kimutatni az amylin expresszió és a gondozó viselkedés között, pedig ez a terület a szülői viselkedés szempontjából igen fontos (Dulac et al., 2009; Pfaff et al., 2009). Patkányokban a hím és nőstény egyedeknél is

a szülői gondozásért felelős, itt az oxytocin és vazopresszin helyi kibocsátásával járul hozzá a gondozó viselkedések szabályozásához. Mindkét hormon expressziójának mértéke növekszik laktáláskor anyapatkányokban, így ez a terület kiemelten fontos emlősökben a szülői gondozás szabályozásában (Bosch *et al.*, 2010). Emellett anyapatkányokban az amylin fő expressziós területe is a POA (Dobolyi, 2009), így mi is erőteljes expressziót vártunk a zebra pintyekben. Várakozásunkkal ellentétben csupán közel szignifikáns értékeket kaptunk az analíziseink során a szülői gondozás és a mPOA kapcsolatában, ám az alacsony mintaelemszám viszonyában ez valószínűsíthetően tényleges összefüggést jelent.

Az NAcc fő feladata a jutalmazási központ szabályozása illetve az anyai viselkedések szabályozását is főként jutalmazáson keresztül végzi dopamin segítségével (Numan, 2007). Ez az anyai motivációért felelős központ és a gondozás között mi negatív korrelációt találtunk, amely felveti a kérdést, hogy akadhat-e valamiféle háttér gátló hatás, amely ezt okozza. Patkányokon végzett kísérletek azt mutatták ki, hogy az anyai viselkedés, azon belül is a szoptatási stimulus nagyobb boldogságérzetet kelt, mint ha kokainnak tesz ki az egyedtet, amely esetben szoptató anyáknál gátló hatás lép fel, ezzel erősítve azt, hogy az utódok szoptatása legyen a legkifizetődőbb tevékenység gondozás alatt (Ferris *et al.*, 2005).

Az amylin expressziója és a vizsgált csoportok (gondozó – nem gondozó) között nem sikerült kapcsolatot találnunk sem kvalitatív sem kvantitatív módon. Az amylin és utódgondozás közvetlen kapcsolata mellett felmerül annak lehetősége is, hogy az SBN-ben az amylin esetleg más neuropeptidekkel közösen hat, vagy talán az utódgondozás rengeteg más aspektusa közül más viselkedési folyamat váltja ki az expresszióját. Ezek felderítése további kutatásokat kívánna.

Számos különböző a szociális hálózatban kulcsfontosságú agyterületet vizsgáltunk meg és ezek közül az amylin expresszióján keresztül a gondozó és nem gondozó csoportok esetében nem sikerült kapcsolatot találnunk. Az, hogy nem találtunk gondozó és nem gondozó csoport között különbséget, csupán a gondozó csoporton belül (nemek között) arra utal, hogy

az amylinnek nem kizárólagos a szerepe az utódgondozásban. Ellenkező esetben találtunk volna különbséget a gondozó és nem gondozó csoportok között is. Kísérletesen bizonyított tény, hogy a párba állás számos változást indukál az agyban (Young & Wang, 2004) ám megeshet, hogy a zebra-pintyek opportunistá szaporodási stratégiája miatt ezek a változások gyorsak, és a neuropeptidek szintje ennek megfelelően hamar visszaáll a kontroll szintre.

A kutatásunk során alacsony mintaszám mellett is sikerült néhány esetben trendet kimutatni, így kimondható, hogy ebben a kísérleti felállásban újabb egyedekkel a vizsgálatot bővíteni nem érdemes. Célszerű esetleg más viselkedések vizsgálata az amylin termeléssel kapcsolatban, vagy a szaporodás, azon belül is a gondozás más stádiumaiban vizsgálni annak jelenlétét és eloszlását.

8. Összefoglalás

A szülői gondozás és annak neurokémiai háttere egy fontos és sokat kutatott témakör emlősök körében, ám a szociálisan monogám madárfajok körében kevés az erre irányuló kutatás. Tesztalányunk, a zebra-pinty (*Taeniopygia guttata*) széles körben alkalmazott modell faj szociális viselkedések kutatásában.

A madarak agyi régióival és azok neurotranszmitter hálózatával foglalkozó tanulmányok nagy része az énektanulásra, szociális kapcsolatokra (pl. párba állás, territorialitás és agresszió) koncentrál, ezzel szemben a szülői gondozásban betöltött szerepükre kisebb hangsúly kerül. Az általunk vizsgált peptid, az amylin expressziója patkány anyákban bizonyítottan az anyai viselkedéshez köthető. Mivel az agyi szociális hálózat alapja emlősökben és madarakban közel azonos, ám az utódgondozási stratégia nagyban eltér az emlősök és kétszülős madárfajok között, kíváncsiak voltunk, hogy mennyiben különbözik az amylin expressziójának mintázata.

Két szaporodási stádium (inkubáló és etető) szülői viselkedésének elemzésével és a szociális hálózat több régiójának *in situ* hibridizációval megnéztük, hogyan tér el az amylin expressziója a nemek és a szaporodási

stádiumok között, illetve van-e kvantitatív kapcsolat az utódgondozás és az amylin expressziójának mérték között.

Feltételezésünkkel ellentétben az utódgondozás stádiumai és az amylin expressziója között a legtöbb agyi területen nem sikerült kapcsolatot kimutatnunk, ám a nemi különbségek jelentősek voltak. Az Area X esetén mind nemi különbséget, mind gondozási stádiumok közötti eltérést kimutattunk, ám a kettő között nem találtunk korrelációt. Az NAcc területén erősen negatív korrelációt találtunk az utódgondozó stádiumok között, így itt valamiféle gátló hatást feltételezünk. Az mPOA területén csupán negatív korrelációs trendet sikerült kimutatnunk a gondozási stádiumokkal kapcsolatban.

Kutatásunk eredményei ígéretesek ám rávilágítottak arra, hogy az amylin expressziójának pontosabb megértéséhez és gondozási viselkedéshez kapcsolásához mélyebb vizsgálatok szükségesek, amelyeket esetlegesen más gondozási periódusokban vagy más anyagokkal kölcsönhatásban lenne érdemes elvégezni. Emellett a nagy egyedi variancia általi torzító hatás csökkentésének érdekében hasonló kísérletek során érdemes lenne valamivel növelni a mintaelemszámot.

9. Abstract

Parental care and its neurochemical background is both an important and a widely studied subject in mammals, however our information regarding birds is lacking. Our experimental subject, the zebra finch (*Taeniopygia guttata*) is a widely used model species in studies of social behavior.

Most studies on brain regions and their neurotransmitter systems in birds concentrate on song learning or social interactions, such as pair bonding, territoriality and aggression, but their role in parental care is not investigated. The expression of our neuropeptide in focus, amylin, was shown to have strong effects on maternal care in rats. Since the basic structure of the mammalian and avian social behavioral network is very similar, whereas the parental care of mammals and biparental bird species is so different, we were

interested in investigating how differences in the expression pattern of amylin. Analyzing parental behavior in two reproductive stages (incubation and feeding) and using *in situ* hybridization of different regions of the SBN we investigated how the expression of amylin differs between sexes and reproductive stages, and whether amylin expression quantitatively predicts parental effort.

Contrary to our hypothesis, we were not able to prove any connection between the expression of amylin and the different reproductive stages in most brain regions, however we were able to find sexual differences. In the Area X we found differences between the sexes and reproductive stages, though we did not find any correlation between the two. In the NAcc we found strong negative correlations between the reproductive stages and we hypothesize that there is some kind of background restriction here. In the mPOA we only found a negatively correlative trend between the reproductive stages.

Our preliminary findings are promising, however our study highlights the fact that to understand the expression of amylin and the connection it may hold to parental care we must use more in depth analysis of perhaps different aspects of parental care, a different stage of reproduction or in interaction with other neurochemicals. Also to combat the distortion effects of large individual variances in amylin expression, in any further studies it would be advisable to increase the sample size.

10. Irodalomjegyzék

- Bamshad, M., & Albers, H. E. (1996). Neural circuitry controlling vasopressin-stimulated scent marking in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *The Journal of Comparative Neurology*, 369(2), 252–263. PMID: 8726998
- Barkov, N. K., & Ostrovskaia, R. U. (1975). [Effect of carbidine on conditioned defense reflexes]. *Biulleten' Eksperimental'noi Biologii I Meditsiny*, 79(4), 61–64. PMID: 105
- Becskei, C., Riediger, T., Zünd, D., Wookey, P., & Lutz, T. A. (2004). Immunohistochemical mapping of calcitonin receptors in the adult rat brain. *Brain Research*, 1030(2), 221–233. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.10.012>
- Boesch, C. (1992). Clutton-Brock T. H. 1991. *The Evolution of Parental Care*. Princeton University Press. 352 pp., P/b: \$19.95, H/b \$ 49.50. ISBN: 0-691-02516-9. *Journal of Evolutionary Biology*, 5(4), 719–721. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1992.5040719.x>
- Bölting, S., & von Engelhardt, N. (2017). Effects of the social environment during adolescence on the development of social behaviour, hormones and morphology in male zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Frontiers in Zoology*, 14, 5. <https://doi.org/10.1186/s12983-017-0190-4>
- Bosch, O. J., Pförsch, J., Beiderbeck, D. I., Landgraf, R., & Neumann, I. D. (2010). Maternal behaviour is associated with vasopressin release in the medial preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis in the rat. *Journal of Neuroendocrinology*, 22(5), 420–429. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.01984.x>
- Burley, N. T., & Johnson, K. (2002). The evolution of avian parental care. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 357(1419), 241–250. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0923>
- Cade, T. C., & Maclean, G. L. (1967). Transport of water by adult Sandgrouse to their young. 69(4), 323–343.
- Coolen, L. M., Peters, H. J., & Veening, J. G. (1997). Distribution of Fos immunoreactivity following mating versus anogenital investigation in the male rat brain. *Neuroscience*, 77(4), 1151–1161. PMID: 9130794
- Cushing, B. S., Moge kwu, N., Le, W.-W., Hoffman, G. E., & Carter, C. S. (2003). Cohabitation induced Fos immunoreactivity in the monogamous prairie vole. *Brain Research*, 965(1–2), 203–211. PMID: 12591139
- Delesalle, V. A. (1986). Division of parental care and reproductive success in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *Behavioural Processes*, 12(1), 1–22. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(86\)90066-5](https://doi.org/10.1016/0376-6357(86)90066-5)

- Delville, Y., De Vries, G. J., & Ferris, C. F. (2000). Neural connections of the anterior hypothalamus and agonistic behavior in golden hamsters. *Brain, Behavior and Evolution*, 55(2), 53–76. <https://doi.org/6642>
- Dobolyi, A. (2009). Central amylin expression and its induction in rat dams. *Journal of Neurochemistry*, 111(6), 1490–1500. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06422.x>
- Dobolyi, A., & Palkovits, M. (2008). Expression of latent transforming growth factor beta binding proteins in the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 507(3), 1393–1408. <https://doi.org/10.1002/cne.21621>
- Dulac, C., O’Connell, L. A., & Wu, Z. (2014). Neural control of maternal and paternal behaviors. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6198), 765–770. <https://doi.org/10.1126/science.1253291>
- Eggert AK, Müller JK., (keresztnév), & In: Choe JC, Crespi BJ, editors. (1997). Biparental care and social evolution in burying beetles: Lessons from the larder. In *The Evolution of Social Behavior in Insects and Arachnids*. (Cambridge University Press, p. 216–236.).
- EI-Wailly, A. J 1966. Energy requirements for egg laying and incubation in the Zebra Finch, *Taeniopygia guttata*. *Condor* 68: 582-594.
- Elie, J. E., Mathevon, N., & Vignal, C. (2011). Same-sex pair-bonds are equivalent to male–female bonds in a life-long socially monogamous songbird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65(12), 2197–2208. <https://doi.org/10.1007/s00265-011-1228-9>
- Elie, J. E., & Theunissen, F. E. (2016). The vocal repertoire of the domesticated zebra finch: a data-driven approach to decipher the information-bearing acoustic features of communication signals. *Animal Cognition*, 19(2), 285–315. <https://doi.org/10.1007/s10071-015-0933-6>
- Ferguson, J. N., Young, L. J., & Insel, T. R. (2002). The neuroendocrine basis of social recognition. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 23(2), 200–224. <https://doi.org/10.1006/frne.2002.0229>
- Ferris, C. F., Kulkarni, P., Sullivan, J. M., Harder, J. A., Messenger, T. L., & Febo, M. (2005a). Pup suckling is more rewarding than cocaine: evidence from functional magnetic resonance imaging and three-dimensional computational analysis. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(1), 149–156. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3156-04.2005>
- Ferris, C. F., Kulkarni, P., Sullivan, J. M., Harder, J. A., Messenger, T. L., & Febo, M. (2005b). Pup Suckling Is More Rewarding Than Cocaine: Evidence from Functional Magnetic Resonance Imaging and Three-Dimensional Computational Analysis. *Journal of Neuroscience*, 25(1), 149–156. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3156-04.2005>

- Finch, L., & Hicks, P. E. (1975). Proceedings: Central hypertensive action of histamine in rats. *British Journal of Pharmacology*, 55(2), 274P–275P. PMID: 114
- Forstmeier, W., Segelbacher, G., Mueller, J. C., & Kempenaers, B. (2007). Genetic variation and differentiation in captive and wild zebra finches (*Taeniopygia guttata*): ZEBRA FINCH POPULATION GENETICS. *Molecular Ecology*, 16(19), 4039–4050. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03444.x>
- Gammie, S. C., & Nelson, R. J. (2001). cFOS and pCREB activation and maternal aggression in mice. *Brain Research*, 898(2), 232–241. PMID: 11306009
- Goodson, J. L. (2005). The vertebrate social behavior network: Evolutionary themes and variations. *Hormones and Behavior*, 48(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.02.003>
- Griffith, S. C., & Brown, C. (2015). Social Learning: Parents May Not Always Know Best. *Current Biology*, 25(18), R802–R804. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.022>
- Griffith, S. C., Crino, O. L., Andrew, S. C., Nomano, F. Y., Adkins-Regan, E., Alonso-Alvarez, C., ... Williams, T. D. (2017). Variation in Reproductive Success Across Captive Populations: Methodological Differences, Potential Biases and Opportunities. *Ethology*, 123(1), 1–29. <https://doi.org/10.1111/eth.12576>
- Harding, C. (2003). Vasotocin treatment inhibits courtship in male zebra finches; concomitant androgen treatment inhibits this effect. *Hormones and Behavior*, 44(5), 413–418. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2003.06.007>
- Hay, D. L., Chen, S., Lutz, T. A., Parkes, D. G., & Roth, J. D. (2015). Amylin: Pharmacology, Physiology, and Clinical Potential. *Pharmacological Reviews*, 67(3), 564–600. <https://doi.org/10.1124/pr.115.010629>
- Heeb, M. M., & Yahr, P. (2001). Anatomical and functional connections among cell groups in the gerbil brain that are activated with ejaculation. *The Journal of Comparative Neurology*, 439(2), 248–258. PMID: 11596052
- Hill, D. L., Lindstrom, J., McCafferty, D. J., & Nager, R. G. (2014). Female but not male zebra finches adjust heat output in response to increased incubation demand. *Journal of Experimental Biology*, 217(8), 1326–1332. <https://doi.org/10.1242/jeb.095323>
- Kalinichev, M., Rosenblatt, J. S., Nakabeppu, Y., & Morrell, J. I. (2000). Induction of c-fos-like and fosB-like immunoreactivity reveals forebrain neuronal populations involved differentially in pup-mediated maternal behavior in juvenile and adult rats. *The Journal of Comparative Neurology*, 416(1), 45–78. PMID: 10578102

- Kirkpatrick, B., Kim, J. W., & Insel, T. R. (1994). Limbic system fos expression associated with paternal behavior. *Brain Research*, 658(1–2), 112–118. PMID: 7834331
- Klatt, J. D., & Goodson, J. L. (2012). Oxytocin-like receptors mediate pair bonding in a socially monogamous songbird. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1750), 20122396–20122396. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2396>
- Kokko, H., & Jennions, M. D. (2008). Parental investment, sexual selection and sex ratios. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(4), 919–948. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01540.x>
- Kollack-Walker, S., & Newman, S. W. (1995). Mating and agonistic behavior produce different patterns of Fos immunolabeling in the male Syrian hamster brain. *Neuroscience*, 66(3), 721–736. PMID: 7644033
- Kollack-Walker, S., Watson, S. J., & Akil, H. (1997). Social stress in hamsters: defeat activates specific neurocircuits within the brain. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(22), 8842–8855. PMID: 9348352
- Lessells, C.M. 1999. Sexual conflict in animals. In: *Levels of Selection in Evolution* (L.Keller, ed.), pp. 75–99. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Leung, C. H., Abebe, D. F., Earp, S. E., Goode, C. T., Grozhik, A. V., Mididoddi, P., & Maney, D. L. (2011). Neural Distribution of Vasotocin Receptor mRNA in Two Species of Songbird. *Endocrinology*, 152(12), 4865–4881. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1394>
- Lim, M. M., & Young, L. J. (2004). Vasopressin-dependent neural circuits underlying pair bond formation in the monogamous prairie vole. *Neuroscience*, 125(1), 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.12.008>
- Lonstein, J. S., Simmons, D. A., Swann, J. M., & Stern, J. M. (1998). Forebrain expression of c-fos due to active maternal behaviour in lactating rats. *Neuroscience*, 82(1), 267–281. PMID: 9483519
- Menyhart, O., Kolodny, O., Goldstein, M. H., DeVogd, T. J., & Edelman, S. (2015). Juvenile zebra finches learn the underlying structural regularities of their fathers' song. *Frontiers in Psychology*, 6, 571. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.00571>
- Morgan, H. D., Watchus, J. A., Milgram, N. W., & Fleming, A. S. (1999). The long lasting effects of electrical stimulation of the medial preoptic area and medial amygdala on maternal behavior in female rats. *Behavioural Brain Research*, 99(1), 61–73. PMID: 10512573
- Morvai, B., Nanuru, S., Mul, D., Kusche, N., Milne, G., Székely, T., ... Pogány, Á. (2016). Diurnal and Reproductive Stage-Dependent Variation of Parental

- Behaviour in Captive Zebra Finches. PLOS ONE, 11(12), e0167368. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167368>
- Murphy, M. T., Chutter, C. M., & Redmond, L. J. (2015). Quantification of avian parental behavior: what are the minimum necessary sample times? *Journal of Field Ornithology*, 86(1), 41–50. <https://doi.org/10.1111/jofo.12087>
- Newman, S. W. (1999). The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877, 242–257. PMID: 10415653
- Nottebohm, F., & Arnold, A. P. (1976). Sexual dimorphism in vocal control areas of the songbird brain. *Science (New York, N.Y.)*, 194(4261), 211–213. PMID: 959852
- Numan, M. (2007). Motivational systems and the neural circuitry of maternal behavior in the rat. *Developmental Psychobiology*, 49(1), 12–21. <https://doi.org/10.1002/dev.20198>
- Numan, M. (2012). Maternal Behavior: Neural Circuits, Stimulus Valence, and Motivational Processes. *Parenting*, 12(2–3), 105–114. <https://doi.org/10.1080/15295192.2012.680406>
- O’Connell, L. A., & Hofmann, H. A. (2012). Evolution of a vertebrate social decision-making network. *Science (New York, N.Y.)*, 336(6085), 1154–1157. <https://doi.org/10.1126/science.1218889>
- Oliver, T., & Haddon, F. (1985). *The golden book of Australian birds and mammals*. Sydney: Golden Press.
- Perfito, N., Zann, R. A., Hau, M., & Bentley, G. E. (2015). Seasonal-like variation in song control system volume of wild zebra finches. *Journal of Experimental Zoology. Part A, Ecological Genetics and Physiology*, 323(8), 586–591. <https://doi.org/10.1002/jez.1956>
- Pfaff, D. W., & Joëls, M. (2017). *Hormones, brain, and behavior*. Retrieved from <http://www.credoreference.com/book/esthormones>
- Reynolds, J. D., Goodwin, N. B., & Freckleton, R. P. (2002). Evolutionary transitions in parental care and live bearing in vertebrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 357(1419), 269–281. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0930>
- S.C, G., S.R, P., & M, M. (2008). Use of nest-boxes by the zebra finch (*Taeniopygia guttata*): implications for reproductive success and research. *Emu*, 108, 311–319.
- Schindelin, J., Rueden, C. T., Hiner, M. C., & Eliceiri, K. W. (2015). The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Molecular Reproduction and Development*, 82(7–8), 518–529. <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>

- Sexton, P. M., Paxinos, G., Kenney, M. A., Wookey, P. J., & Beaumont, K. (1994). In vitro autoradiographic localization of amylin binding sites in rat brain. *Neuroscience*, 62(2), 553–567. PMID: 7830897
- Sheehan, T., Paul, M., Amaral, E., Numan, M. J., & Numan, M. (2001). Evidence that the medial amygdala projects to the anterior/ventromedial hypothalamic nuclei to inhibit maternal behavior in rats. *Neuroscience*, 106(2), 341–356. PMID: 11566505
- Smith, J. M. (1977). Parental investment: A prospective analysis. *Animal Behaviour*, 25, Part 1, 1–9. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(77\)90062-8](https://doi.org/10.1016/0003-3472(77)90062-8)
- Stachniak TJ, Krukoff TL. (2003) Receptor activity modifying protein 2 distribution in the rat central nervous system and regulation by changes in blood pressure. *J Neuroendocrinol*, 15: 840-850.
- Suzuki, S. (2013). Biparental Care in Insects: Paternal Care, Life History, and the Function of the Nest. *Journal of Insect Science*, 13. <https://doi.org/10.1673/031.013.13101>
- Szabó, É. R., Cservenák, M., & Dobolyi, A. (2012). Amylin is a novel neuropeptide with potential maternal functions in the rat. *The FASEB Journal*, 26(1), 272–281. <https://doi.org/10.1096/fj.11-191841>
- Székely, T., Reynolds, J. D., & Figuerola, J. (2000). Sexual size dimorphism in shorebirds, gulls, and alcids: the influence of sexual and natural selection. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 54(4), 1404–1413. PMID: 11005306
- Szülői gondoskodás. (n.d.). Retrieved from <http://vocs.zool.klte.hu/sex/parentfiles/parent.htm>
- Trivers, R. L., & Willard, D. E. (1973). Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science (New York, N.Y.)*, 179(4068), 90–92. PMID: 4682135
- Udvardy Szabina (2016). Vazotocin és vazoaktív intestinalis polipeptid agyi expressziójának nemtől és szaporodási stádiumtól függő változásai zebrapintyeken.
- Wang, Z., Hulihan, T. J., & Insel, T. R. (1997). Sexual and social experience is associated with different patterns of behavior and neural activation in male prairie voles. *Brain Research*, 767(2), 321–332. PMID: 9367264
- Westermarck, P., Andersson, A., & Westermarck, G. T. (2011). Islet amyloid polypeptide, islet amyloid, and diabetes mellitus. *Physiological Reviews*, 91(3), 795–826. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2009>
- Young, L. J., & Wang, Z. (2004). The neurobiology of pair bonding. *Nature Neuroscience*, 7(10), 1048–1054. <https://doi.org/10.1038/nn1327>

Zann, R. A., & Bamford, M. (1996). *The Zebra Finch: A Synthesis of Field and Laboratory Studies*. Oxford, New York: Oxford University Press.

Zann, R., & Rossetto, M. (1991). Zebra Finch Incubation: Brood Patch, Egg Temperature and Thermal Properties of the Nest. *Emu*, 91(2), 107–120. <https://doi.org/10.1071/mu9910107>

11. Köszönetnyilvánítás

Első sorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Pogány Ákosnak, amiért szárnyai alá vett és megadta számomra a lehetőséget, hogy nála írjam a szakdolgozatomat. Emellett hálás köszönettel tartozom neki azért, amiért idejét és kedvességét nem sajnálva segített a statisztikát rendezni.

Hatalmas köszönet illeti Zachar Gergelyt, amiért a kutatáshoz felhasznált agyakon elvégezte, amit el kellett, a gyűjtéstől a kvantifikációig, és késő este is azonnal válaszolt a neurológiával kapcsolatos e-mail-jeimre.

Továbbá köszönettel tartozom Morvai Boglárkának, amiért bármilyen pintyekkel és a videók kódolásával kapcsolatos kérdéseimre készségesen, bármikor és gyorsan válaszolt.

Kosztolányi Andrásnak a belső konzulensként nyújtott segítséget köszönöm, illetve a jó tanácsokat a témabeszámolókra készített előadásokhoz.

Végül köszönettel tartozom a családomnak és barátaimnak, amiért támogattak és szükség szerint némi noszogatással, biztatással vagy épp csendes társaságként motiváltak. Külön köszönetet szeretnék mondani Kemecei Róbertnek és Petrányi Bálintnak, amiért szabadidejüket nem sajnálva segítettek nekem, amikor arra szükségem volt. Udvardy Szabinának pedig a címlapon szereplő zebra-pintyét köszönöm.

Nélkülük ez a dolgozat nem jöhetett volna létre.

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI
NYILATKOZAT*

Név: Németh Viktória Bernadett

Elérhetőség (e-mail cím): n.viktoriab@gmail.com

**A feltöltendő mű címe: Amylin agyi expressziójának hatása
zebrapintyek utódgondozására**

A mű megjelenési adatai: Budapest, 2017

Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédtett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és leg-jobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg **(egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel):**

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörő módon visszaélne.

Budapest, 2017. év 04. hó 28. nap

aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetA Magyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgálta, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

12. Melléklet

individual	cage	gender	reproductive status	status	mstcorr	areaxcorr	mAccorr	POM n	IHy n	HVC n	ICOcorr	Tattmin	Tattendance
52	5	f	incubate	c	107,565	120,81	61,47	2,5	5	24	9,875	151,857	9111,4
12	5	m	incubate	c	57,74	26,395	79,005	5	2,5		16,105	121,82	7309,2
934	7	f	incubate	c	38,865	41,33	46,33	4,5				160,777	9646,6
947	7	m	incubate	c	93,995	51,935	87,2	3	5,5			105,747	6344,8
443	27	f	feeding	c	93,44	128,72	105,22	7,5	11,5		11,865	51,78	3106,8
472	27	m	feeding	c	99,445	46,965	122,94	14,5	4	5,5	9,83	19,7433	1184,6
45	35	m	feeding	c	55,19	42,95	118,82	19,5	6,5		20,54	45,9033	2754,2
82	35	f	feeding	c	42,53	58,375	75,08	6,5	5,5	0,5	11,23	94,9767	5698,6
34	40	m	feeding	c	64,35	32,59	132,38	5	5	8	5,77	17,4133	1044,8
29	40	f	feeding	c	62,61	63,55	51,045	5,5	6,5	17	3,64	70,4133	4224,8
862B		m	ctrl	nc	53,935	28,645	159,38	10	7	7	11,23		
ur10		f	ctrl	nc	81,07	86,27	81,56			7,5	10,73		
56		m	paired	nc	65,47	19,78	67,12		5		3,565		
ur4		m	paired	nc	64,945	33,255	58,845	5,5	7	1	5,77		
ur14		m	paired	nc	108,815	92,535	133,485	17,5	4	0,5	8,945		
81		f	paired	nc	44,51	47,46	32,73	3	5	13	8,675		
797		f	paired	nc	60,08	56,97	83,67	4	5	3	5,05		

4. táblázat Kutatáshoz felhasznált adatbázis (gyűrűszám, ketrec, nem, szaporodási státusz, gondozó/nem gondozó, mst, Area X, NAcc, mPOA, IHy, HVC, ICo, fészkekben töltött idő [perc], fészkekben töltött idő [mp])