

A NAPOS KORI HŐKEZELÉS TRANZGENERÁCIÓS HATÁSAINAK VIZSGÁLATA HÁZITYÚKBAN

LÁZÁR BENCE - TOKODYNÉ SZABADI NIKOLETT - TÓTH ROLAND - ECKER ANDRÁS -
URBÁN MARTIN - VÁRKONYI ESZTER - LIPTÓI KRISZTINA - GÓCZA ELEN

ÖSSZEFOGLALÁS

A jövőben az állatok adaptációs képességének kiaknázása elengedhetetlen lesz egy hatékonyabb, versenyképesebb állattenyésztés kialakításában. A kutatásunk célja egy olyan eljárás kidolgozása volt, amely lehetővé teszi a magas hőmérséklet tolerálására képes baromfi vonalak létrehozását. Ennek érdekében egy speciális hőkondicionálási módszert kívántunk alkalmazni, amely segít enyhíteni a magas hőmérséklet okozta stressz következményeit. A vizsgálataink során ősvarsejteket (primordial germ cell, PGC) használtunk, amelyek hatékonyan alkalmazhatók a génmegőrzésben, illetve *in vitro* modellrendszerekben is, a molekuláris biológiai folyamatok tanulmányozására. 26 ősvarsejt vonalat hoztunk létre kontroll (C), hőkondicionált majd hőstresszen átesett (HTHS), illetve csak hőstresszelt (HS) állatok utódjainak embrióiból izolált ősvarsejtekből. Az RNS-szekvenálási és a teljes genom biszulfid szekvenálási (WGBS) adatok elemzésével számos expressziós különbséget azonosítottunk a hőkondicionált és a hőstresszelt PGC-vonalak között. Szignifikáns különbségeket figyeltünk meg a DMRT1 transzkripció faktor expressziós profiljában is. Eredményeink arra utalnak, hogy a hőkondicionálás epigenetikai változásokat indukál a csírasejtekben, és ezek a változások öröklődhetnek a következő generációkra.

SUMMARY

Lázár, B. – Tokodyné Szabadi, N. – Tóth, R. – Ecker, A. – Urbán, M. – Várkonyi, E. – Liptói, K. – Gócza, E.: INVESTIGATION OF THE TRANSGENERATIONAL EFFECTS OF DAY-OLD HEAT TREATMENT IN DOMESTIC CHICKENS

In developing the future of agriculture, the adaptation ability of animals will play an important role. Our research aimed to create a method that enables the creation of poultry lines capable of tolerating higher temperatures. For this purpose, we wanted to use a specialized heat conditioning technique to moderate the consequences of high temperature-induced stress. Our research utilizes primordial germ cells (PGCs), which are progenitors of germ cells and are effectively used for genetic preservation and studying molecular biological processes as an *in vitro* model system. We established 26 PGC lines derived from offspring of control (C), heat-conditioned and heat-stressed (HTHS), and only heat-stressed (HS) animals. We identified numerous expression differences between the heat-conditioned and heat-stressed PGC lines by analysing the RNA sequencing and whole genome bisulfite sequencing (WGBS) data. Significant differences were observed in the DMRT1 transcription factor expression profile, too. Our results indicate that heat conditioning induces epigenetic changes in germline cells, and these changes can be inherited by subsequent generations.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A globális felmelegedés és éghajlatváltozás hatásai közé tartozik a környezeti tényezők egyre szélesebb skálán történő ingadozása, éves és szezonális szinteken is, extrém éghajlati eseményekkel kombinálva. Ezért a rövid-, illetve a hosszútávú alkalmazkodás az állatok számára egyre nagyobb kihívást jelent, mivel a környezeti feltételek jelentősen változhatnak generációról generációra. A globális felmelegedés különböző stresszhatásoknak teszi ki a gazdasági haszonállatokat is, a megnövekedett hőstressz, a takarmányok összetételének állandó változása a rendelkezésre álló alapanyagok folyamatos változása, valamint újabb és újabb kórokozók megjelenése miatt (Rojas-Downing és mtsai, 2017; Godde és mtsai, 2021).

A kutatókat régóta foglalkoztatja a házityúkok alkalmazkodó képességének javítása. A cél az, hogy a hűvösebb éghajlatú területeken kitenyésztett, nagyobb hús-, és tojás termelési képességekkel rendelkező házityúkok teljesítménye ne romoljon magas átlaghőmérsékletű környezetben sem. A magas hőmérséklet negatívan befolyásolja mind a szaporodásbiológiai, mind a termelési paramétereket, ez pedig súlyos gazdasági károkat okoz (Nawab és mtsai, 2018; Lara and Rostagno, 2013).

Ezek a stresszhatások az ivarsejtekben epigenetikai változásokat hoznak létre, ami segíthet az utódok jobb alkalmazkodó képességének kialakításában a megújuló környezeti feltételek között (Sun és mtsai, 2017). Azonban, ha az epigenetikai átprogramozás időszakában extrém stresszhatások érik az egyedeket, ez negatívan is befolyásolhatja a termelést, szaporodást és az egészséget. Ezért a negatív hatások enyhítése érdekében különös figyelmet kell fordítani az állatok megfelelő gondozására azokban az időszakokban, amikor az epigenetikai változások kódolódnak az ivarsejtekben, amelyek aztán a következő generációkra is átadódhatnak (Gershoni, 2023). Ezt el lehet érni az állatházak hűtési technológiájának javításával, nagy hangsúlyt fektetve az ivarézésre és a későbbi reprodukciós időszakban történő hűtésre. További javulás érhető el az állatok megfelelő takarmányozásával. A tenyésztési technológiák általában kevesebb hím egyed bevonását igénylik a tenyésztési folyamatba, ezért egyetlen egyedben létrejövő negatív változás is hatással lehet az egész populációra.

Az utóbbi években számos tanulmány jelent meg arról (Dunislawska és mtsai, 2021; Sasaki és Matsui, 2008; Kota és Feil, 2010; Verdikt és Allard, 2021), hogy az epigenetikai változások, beleértve a DNS metilációt és a hiszton módosulását, fontos szerepet játszanak az ivarsejtek differenciálódása során. Epigenetikai változások irányítják az ivarsejtek érésének folyamatát, beleértve az ősvarsejtek vándorlását, elköteleződését, a DNS metilációs mintázatának letörődését és ivarfüggő újra metilálódását az emlősök ivarsejtjeinek esetében.

A DNS metiláció és a hiszton módosulások közötti kölcsönhatások tanulmányozása nem egyszerű. Új technológiák, új megközelítések szükségesek, amelyek lehetővé teszik a genetikai és az epigenetikai változások nyomon követését. Ezen folyamatok jobb megismerése segítséget jelenthet az terméketlenség kezelésében, valamint az epigenetikai szabályozások funkciójának jobb megértésében.

Az epigenetikai szabályozás során a gének expressziós szintjének, a transzkripció sebességének megváltozása jön létre az adott gének szabályozó régiói-

1. ábra A: A hőstressz hatására a HSF1 (hősokk faktor 1) trimereket alkot, majd foszforilálódik és kötődik a HSP gének átírását szabályozó HSE (hősokk faktor reguláló) régióhoz a sejtmagban, ezzel aktiválva a HSP expresszióját. B: A hőstressz hatására a HSP-k promótere hipermetilálódik, a nukleoszmák átrendeződését befolyásoló dezacetiláz (NuRD) közreműködésével, így közvetlenül befolyásolja az HSP-k expresszióját (Wu és mtsai, 2020)

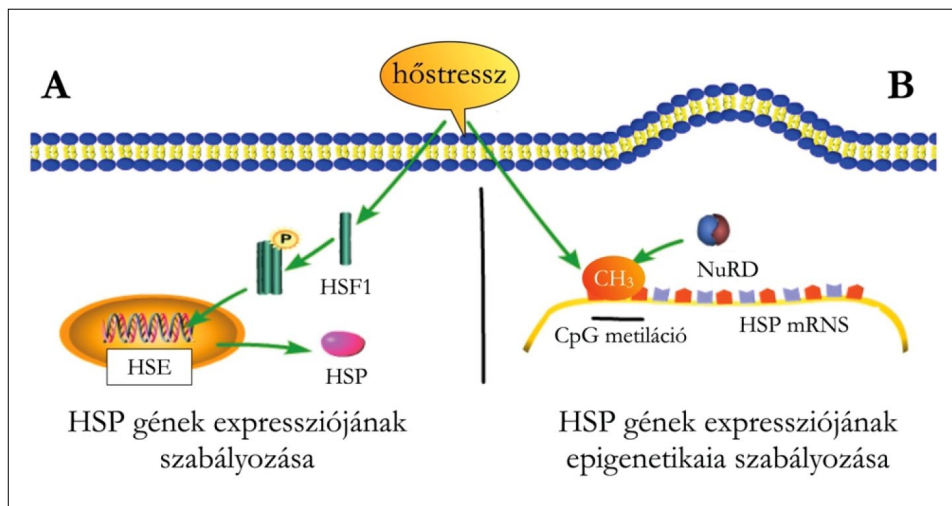


Figure 1. A: Under heat stress, HSF1 (heat shock factor 1) forms trimers, then becomes phosphorylated and binds to the HSE (heat shock factor regulatory) region that regulates the transcription of HSP genes in the cell nucleus, thereby activating HSP expression. B: Under heat stress, the promoter of HSP genes undergoes hypermethylation, facilitated by the nucleosome remodelling deacetylase (NuRD), thereby directly influencing the expression of HSP genes (Wu et al., 2020).

nak metilációs szintjében történő változás, illetve a hiszton fehérje módosulások következtében, az ezekhez kapcsolódó jelátviteli útvonalak szabályozása révén (Wu és mtsai, 2020). Az 1. ábra a hőstressz hatására bekövetkező szabályozás két lehetséges útvonalát szemlélteti. A hősokk faktorok hatására megemelkedhet a hősokk fehérjék expressziója (1.A), de a hősokk fehérjék promóter régiójának hipermetilációja révén ezek expressziója csökkenhet is (1.B) (Wu és mtsai, 2020). Érdekes kettősség mutakozhat meg eltérő ivarú egyedeknél a hőkezelés hatására létrejövő változások esetében a DMRT1 expressziós szintjében, amiben a Dmrt1 gén promóterének CpG szigeteiben a hímek és nőstények esetében található eltérő metilációs mintázata is szerepet játszhat (2. ábra). (Jia és mtsai, 2019).

Bár számos tanulmány készült a hősokk fehérjék (HSP) szabályozásának genetikai és epigenetikai mechanizmusairól, számos kérdés és probléma továbbra is tisztázásra vár. A HSP család számos tagja más-más szerepet játszik a folyamatok szabályozásában. A kutatások nagyobb része a HSP70 szerepét vizsgálta, *in vivo* és *in vitro* módszerekkel egyaránt. Azonban eltérő sejt kultúrákat használtak, eltérő fajok esetében, vagy különböző szerveket vizsgáltak, így nehéz ezekből az eredményekből egységes következtetéseket levonni (Perini és mtsai, 2021; Balakrishnan és mtsai, 2023).

Az ősvarsejt (primordial germ cell, PGC) az a sejt típus, amely képes a genetikai anyag átadására a következő generációk számára. Eredetük nem az embrionális

2. ábra A: A *Dmrt1* gén promóterében található CpG szigetek. B, C: A vizsgált régióban a CpG szigetek eltérő metilációs mintázatot mutattak a pontyfélék ivarszerveiben. Míg a petefészekben nagyrészt metiláltak a CpG szigetek, addig a hímek esetében nem található metilált régió. A kitöltött körök a metilált pozíciókat jelölik (Jia és mtsai, 2019)

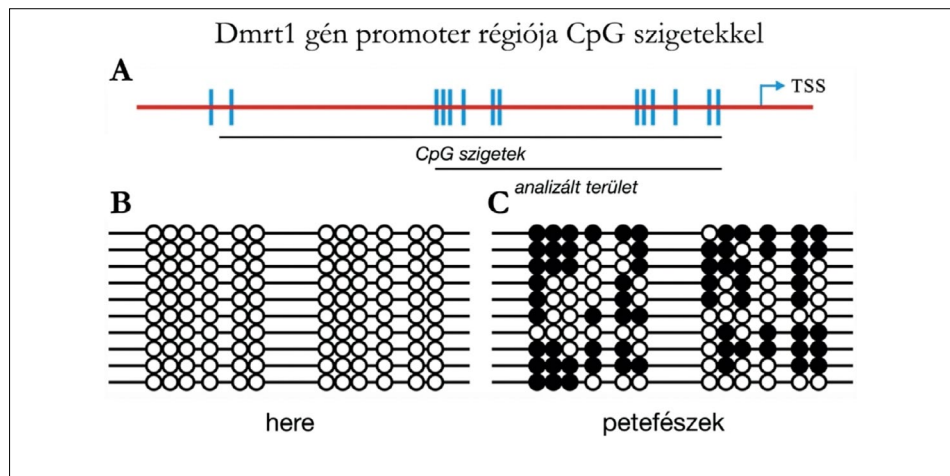


Figure 2. A: The position of *Dmrt1* promoter CpG island, with each vertical line representing the position of the CpG dinucleotide. B, C: Bisulfite sequencing results of *Dmrt1* promoter CpG island in the genomes of *C. alburnus* testes and ovaries. Open and filled circles indicate unmethylated or methylated positions (Jia és mtsai, 2019)

gonádokhoz köthető, csak az embrionális fejlődés során vándorolnak az ivarlécekhez (Tagami és mtsai, 2017). Számos fajjal ellentétben a madár ősvarsejtek vándorlása a véráramban történik, így azok a vérből izolálhatók, megfelelő sejtenyészítő médium alkalmazásával ősvarsejt vonalak hozhatók létre azokból (Whyte és mtsai, 2015). Ezek a sejtenyészetek kiváló *in vitro* vizsgálati lehetőséget biztosítanak – többek között – az epigenetikai folyamatok tanulmányozásában is.

Ebben a közleményben azon kutatásunk eredményeiről számolunk be, amelyben ősvarsejtek esetében vizsgáltuk a hőkondicionálás, illetve a hőstressz hatására létrejött molekuláris biológiai változásokat RNS szekvenálás és teljes genom biszulfit szekvenálás alapján.

Kutatásunk célja az volt, hogy kidolgozzunk egy olyan eljárást, amely lehetővé teszi a magasabb környezeti hőmérséklet tolerálására képes baromfi vonalak kialakítását egy optimális fiatalkori hőkezelési módszer kidolgozásával, amelynek eredményeként egy olyan állomány hozható létre, amely tolerálja a magasabb környezeti hőmérsékletet (Loyau és mtsai, 2016).

ANYAG ÉS MÓDSZER

A sejtenyészési és molekuláris biológiai vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézetének, Állatbiotechnológia Tanszékén, az Alkalmazott Embriológia és Óssejt Biológia csoport sejtenyészítő laboratóriumában végeztük.

A kendermagos erdélyi kopasznnyakú tyúk tartása és hőkezelése

A megtermékenyített kendermagos erdélyi kopasznnyakú tyúktojásokat a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézete (NBGK-HGI) bocsájtotta a rendelkezésünkre, 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 adott engedélyt.

A tojásokat MIDI F500S keltetőgépben (PL Machine Ltd., Tárnok, Hungary) 37,5 °C-on, 60%-os páratartalom mellett keltették. A kikelés után a csibéket infravörös lámpa alá helyezték 32 °C-on, nedvszívó papíralmon. A takarmány és a víz *ad libitum* hozzáférhető volt. A hőkondicionáláshoz a hőmérsékletet 38,5 °C-ra, a páratartalmat pedig 60%-ra állítottuk be (HT). A kezelés 12 órán keresztül tartott. A kontroll állatokat 32 °C-on tartottuk (C). Ezután a hőkondicionált és a kezelést nem kapott állatokat azonos körülmények között neveltük fel. Az ivaréret követően (23 hetesen) a hőkondicionált csoportot és a kondicionálást nem kapott állatok egy csoportját 30°C-on, 12 hétig, egy légtérben, faforgács és zeolit keverék almon, 16 órás világítási ciklus mellett, a takarmány és a víz *ad libitum* adása mellett hőstressznek tettük ki (HS). Azokat az állatokat, amelyek

3. ábra A kísérlet folyamat ábrája

(Forrás: Saját szerkesztés. Házityúk és embrió grafika: Pataki Luca)

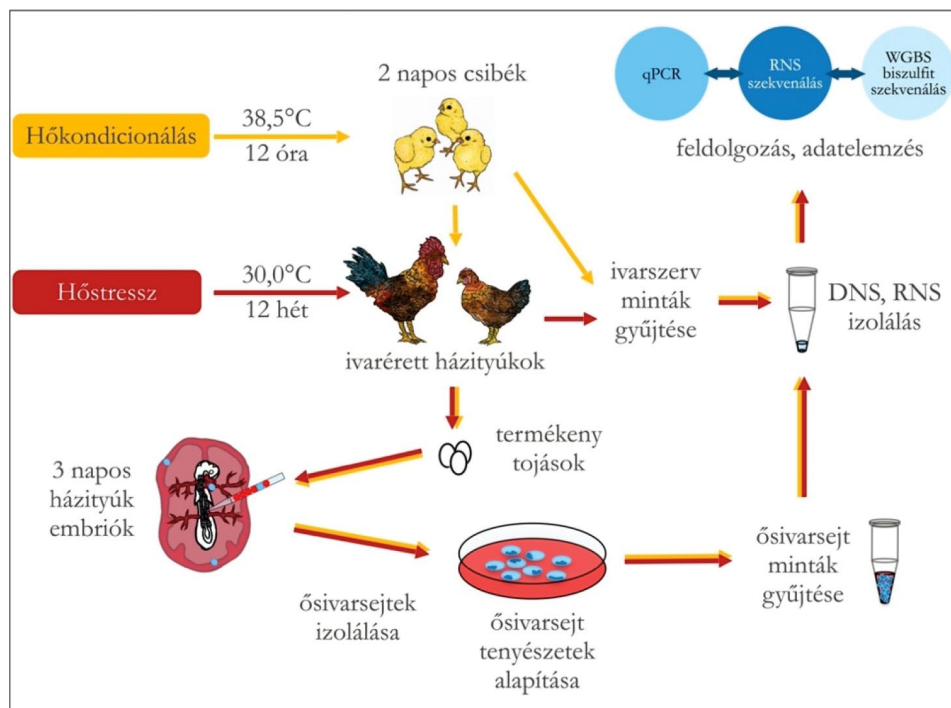


Figure 3. The general outline of the experiment. (Source: Own editing. Graphic of chicken and embryo: Luca Pataki)

nem kaptak sem hőkondicionálást, sem hőstresszt (HS) kontrollként használtuk (C). Az utód generációk létrehozásához az azonos kezelést kapott kakasokat és tojókat párosítottuk (3. ábra).

Ősivarsejtek izolálása, in vitro tenyésztése

A megtermékenyített tojásokat keltetőgépbe helyeztük (37,5 °C, 60%-os páratartalom), majd 2,5 nap elteltével vért vettünk az embriókból (Hamburger-Hamilton féle nevezéktan HH14-16-os stádium) (Hamburger és Hamilton, 1992). A vérvétel az embrió dorzális aortáján keresztül történt egy üveg mikrokapillárisal, amivel 1-2 µl vért tudtunk összegyűjteni. Ezt a mennyiségű vért egy speciális tenyésztőmediumba helyeztük, ami csak az ősivarsejtek fejlődését támogatja, így négy héten belül homogén ősivarsejt tenyészeteket tudtunk alapítani. A felhasznált médium elkészítésének leírása a skóciai Roslin Intézettől származik (Whyte és mtsai, 2015).

DNS izolálás

A DNS izolálása az összes létrehozott ősivarsejt vonalból egyedileg történt a High Pure PCR Template Preparation Kittel (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) a hozzá tartozó protokoll alapján. Az izolálás során kapott DNS minták koncentrációját NanoDrop (ND-1000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) spektrofotométerrel mértük.

Teljes genom biszulfít szekvenálás

A sejtvonalakból kapott DNS minták metilációs mintázatának feltérképezése céljából végzett teljes genom biszulfít szekvenálást az UD-GenoMed Medical Genomic Technologies Kft. (Debrecen) szolgáltatta. A kapott DNS metilációs adatok elemzését Dr. Likó István (UD-GenoMed Medical Genomic Technologies Kft.) végezte.

RNS izolálás

Az RNS izolálása az összes létrehozott ősivarsejt vonalból egyedileg, az RNAqueous Total RNA Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) segítségével, a gyártó protokollja alapján történt. Az izolálás során kapott RNS koncentrációját NanoDrop (ND-1000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) spektrofotométerrel mértük.

RNS szekvenálás

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).

qPCR vizsgálatok

Az ősvarsejt mintákból izolált RNS-ből reverz transzkripcióval cDNS-t szintetizáltunk a gyártó által meghatározott protokoll alapján (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Life Technologies, Carlsbad, CA). A qPCR reakcióhoz SYBR Green Master Mix-et (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) használtunk, és a reakciókat egy Eppendorf Mastercycler Realplex (AG 22331, Hamburg) típusú készülékben végeztük. A vizsgálat során háztartási génként a konstitutívan expresszálandó GAPDH gén kifejeződését mértük. A relatív expressziókat a kontroll mintákhoz viszonyítva számoltuk ki. Minden minta/primer esetében 3 párhuzamos mérést végeztünk.

Statisztikai elemzés

A célgén expresszióját vagy represszióját a belső kontrollgénhez viszonyítva minden mintában GenEx program (MultiD Company) segítségével számítottuk ki a $2^{-\Delta\Delta C_t}$ módszer (Rao és mtsai, 2013) használatával. A vizsgált csoportok közötti statisztikai különbségeket a GenEx 6.0 szoftver segítségével elemeztük, ahol a $p < 0,05$ értékeket vettük szignifikánsnak (* $p < 0,05$).

EREDMÉNYEK

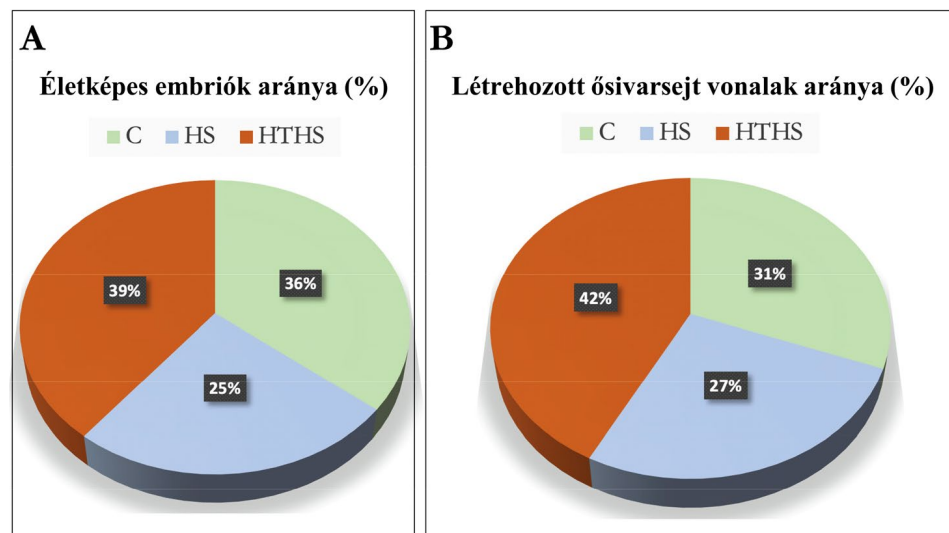
Kutatásunk célja az volt, hogy kidolgozzunk egy olyan speciális hőkezelési (hőkondicionálási) eljárást, amelynek segítségével a magas környezeti hőmérséklet okozta stressz következményeit mérsékelni lehet. Korábbi kutatásaink során a hőkondicionálás, illetve a hőstressz hatására létrejövő molekuláris változásokat közvetlenül a hőkezelést követően, illetve ivarérett korban ivarszervi mintákban vizsgáltuk (Tóth és mtsai, 2021).

Jelen vizsgálatban csoportonként 47 tojásból indultunk ki és 26 ősvarsejt vonalat hoztunk létre a különböző kísérleti csoportokba tartozó állatok utódjaiból (4. ábra). Az alapítás sikerességét a 4.A ábra mutatja. Az általunk alkalmazott hőkondicionálás javította az életképes embriók túlélési arányát a hőstresszes környezeti körülmények között. A kontroll, a két napos korban hőkondicionált és ivarérett korban 12 hétig hőstressznek kitett, illetve csak hőstressznek kitett állatok utódaiból hoztuk létre a vizsgálatokban alkalmazott ősvarsejt vonalakat (4.B ábra). Minden újonnan alapított ősvarsejt vonalból mélyhűtöttünk és eltároltuk azokat a génbankban. A sejtvonalakból gyűjtött egyedi mintákból DNS-t és RNS-t izoláltunk (3. ábra).

A különböző kezelési csoportokból származó mintákat „pooloztuk” (C, HTHS, HS minták). Kezelésenként három-három párhuzamos mintát elküldtünk RNS szekvenálásra. A szekvenálási adatokat elemeztük, majd elkezdtük a kapott eredmények qPCR-vizsgálatokkal történő megerősítését. Mind a poolozott, mind az egyedi mintákból történtek qPCR mérések. A qPCR mérések során a poolozott minták esetében, így a DMRT1 esetében is, a kapott eredmények alátámasztották az RNS szekvenálással kapott expressziós mintázatokat.

Érdemes megjegyezni, hogy amikor az egyedi vonalakból külön elemzéseket végeztük a qPCR segítségével, jelentős eltérést kaptunk az azonos kezelésen

4. ábra A kontroll (C), a két napos korban hőkondicionált és ivarérett korban 12 hétig hőstressznek kitett (HTHS), illetve csak hőstressznek kitett állatok (HS) utódaiból létrehozott ősvarsejt vonalak



A: A vizsgálatban felhasznált életképes embriók aránya a különböző kísérleti csoportok esetében. B: A különböző kísérleti csoportok esetében létrehozott ősvarsejt vonalak aránya

Figure 4. The offspring of animals from the experimental groups (control (C), heat-conditioned at two days of age and exposed to heat stress for 12 weeks during sexual maturity (HTHS), and exposed to heat stress only (HS)) were used to establish primordial germ cell lines.

A: Proportion of viable embryos used in the study for different experimental groups. B: Proportion of primordial germ cell lines established for different experimental groups.

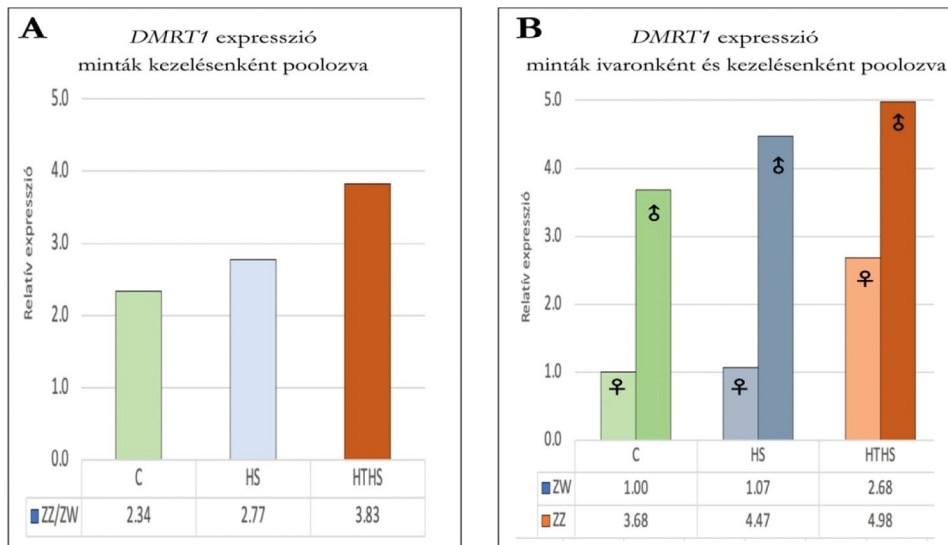
átesett hím és tojó embrióból alapított vonalak esetében. A *DMRT1* expressziója a ZZ és ZW genotípusú sejtvonalak esetében jelentősen eltér, ezt az 5. ábra jól szemlélteti. A *Dmrt1* gén a Z kromoszómán helyezkedik el, a hímeknél ennek a fehérjének a koncentrációja magas a herékben. A *DMRT1* expressziója szükséges ahhoz, hogy normálisan működő hím ivarszerv fejlődjön ki.

Az RNS minták alapján kapott eredmények tükrében a DNS minták esetében már a ZZ genotípusú (hím) és ZW genotípusú (tojó) ősvarsejt vonalakat külön „pooloztuk” (HTHS-ZZ, HTHS-ZW, HS-ZZ, HS-ZW), és ezeket a csoportokat küldtük teljes genom biszulfid szekvenálásra (WGBS). A kapott eredmények feldolgozása jelenleg is zajlik.

Az előzetes eredmények alapján, mivel a hőkondicionálás a kezelt utódok ősvarsejtjeiből létrehozott sejtenyészetek sejtjeiben is kimutatható génexpressziós változásokat idézett elő, elmondható, hogy a kezelés okozta epigenetikai változások az utód generációkra is átadódtak. A hőstressz során szerepet játszó faktorok expressziós szint változása az utód generációban is kimutatható.

Eredményeink alátámasztják a fiatalkori hőkezelés fontosságát.

5. ábra A kontroll (C), a két napos korban hőkondicionált és ivarérett korban 12 hétig hőstressznek kitett (HTHS), illetve csak hőstressznek kitett állatok (HS) utódaiból ősvarsejt vonalak esetében kapott relatív expressziós értékek. A háztartási génként a GAPDH-t, referencia mintaként egy kontroll ZZ ősvarsejt vonalat használtunk.



A: A minták kezelésenként lettek poolozva. B: A minták kezelésenként és ivaronként lettek poolozva. ZZ - hím ősvarsejt vonal, ZW - nőstény ősvarsejt vonal

Figure 5. The relative expression values obtained for primordial germ cell lines derived from the control (C), heat-conditioned at two days of age and exposed to heat stress for 12 weeks during sexual maturity (HTHS), and offspring of animals exposed to heat stress only (HS). The housekeeping gene GAPDH was used as a reference, and a control ZZ primordial germ cell line was used as a reference sample.

A: The samples were pooled per treatment. B: The samples were pooled per treatment and sex. ZZ - male primordial germ cell line, ZW - female primordial germ cell line.

KÖVETKEZTETÉSEK

Munkánk célja az volt, hogy feltárjuk a magas környezeti hőmérséklet okozta stressz hatásait a baromfi szaporodásbiológiai paramétereire. Ehhez házityúk ősvarsejt tenyészeteket használtunk modellrendszerként. A biotechnológiában régóta próbálkoztak madárembrió eredetű sejtvonalak létrehozásával, azonban csak 2015-ben vált lehetségessé a hím és nőivarú madár ősvarsejtek (PGC) hosszú távú fenntartása *in vitro* tenyészetekben. Az ősvarsejt tenyészetek *in vitro* tenyésztése, illetve a tenyésztést követő mélyhűtése minden eddiginél hatékonyabb módszer az őshonos és védett madarak genetikai változatosságának megőrzésére.

Ősvarsejt vonalakat alapítottunk kontroll, két napos korban hőkondicionált és ivarérett korban 12 hétig hőstressznek kitett, illetve csak hőstressznek kitett állatok utódaiból. A különböző eredetű ősvarsejt tenyészetek RNS expressziós mintázatának megismerésével olyan új gének voltak azonosíthatók, amelyek szerepet játszanak a hőstresszre adott válaszban. Mivel a hőkondicionálás az

ősvasejtekben is génexpressziós szint változásokat okozott, megállapítható, hogy a kezelés által okozott epigenetikai változások átörökíthetők az utód generációkra. Az RNS szekvenálási adatokból nyert eredményeket tervezzük a teljes genom biszulfid szekvenálás során kapott eredményeinkkel is összevetni, hogy igazolni tudjuk a fiatalkori hőkezelés hatásosságát.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatásokat a GÉNNET21 (VEKOP-2.3.2-16 - 2016-00012), 2019-2.1.11-TÉT-2019-00036 és NKFIH OTKA FK124708 azonosítójú pályázataink, továbbá az Agrár-biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszerbiztonságért című és RRF-2.3.1-21-2022-00007 azonosító számú pályázat támogatták.

IRODALOMJEGYZÉK

- Balakrishnan, K. N. – Ramiah, S. K. – Zulkifli, I. (2023): Heat shock protein response to stress in poultry: A Review. *Animals*, 13. <https://doi.org/10.3390/ani13020317>.
- Dunislawska, A. – Siwek, M. – Stadnicka, K. – Bednarczyk, M. (2021): Comparison of the transcriptomic and epigenetic profiles of gonadal primordial germ cells of White Leghorn and Green-Legged Partridge-like chicken embryos. *Genes*, 12. <https://doi.org/10.3390/genes12071090>.
- Gershoni, M. (2023): Transgenerational transmission of environmental effects in livestock in the age of global warming. *Cell Stress & Chaperones*, <https://doi.org/10.1007/s12192-023-01325-0>.
- Godde, C. M. – Mason-D'Croz, D. E. – Thornton, P. K. – Herrero, M. (2021): Impacts of climate change on the livestock food supply chain; a Review of the evidence. *Global Food Security* 28. 100488. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100488>.
- Hamburger, V. – Hamilton, H. L. (1992): A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Developmental Dynamics*, 195. 231–72.
- Jia, Y. – Zheng, J. – Chi, M. – Liu, S. – Jiang, W. – Cheng, S. – Gu, Z. – Chen, L. (2019): Molecular identification of Dmrt1 and its promoter CpG methylation in correlation with gene expression during gonad development in Culter Alburnus. *Fish Physiol. Biochem.*, 45. 245–52.
- Kota, S. K. – Feil, R. (2010): Epigenetic transitions in germ cell development and meiosis. *Develop. Cell*, 19. 675–86.
- Lara, L. J. – Rostagno, M. H. (2013): Impact of heat stress on poultry production. *Animals*, 3. 356–69.
- Loyau, T. – Hennequet-Antier, C. – Coustham, V. – Berri, C. – Leduc, M. – Crochet, S. – Sannier, M. (2016): Thermal manipulation of the chicken embryo triggers differential gene expression in response to a later heat challenge. *BMC Genomics*, 17. 329. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2661-y>.
- Nawab, A. – Ibtisham, F. – Li, G. – Kieser, B. – Wu, J. – Liu, W. – Zhao, Y. (2018): Heat stress in poultry production: Mitigation strategies to overcome the future challenges facing the global poultry industry. *J. Thermal Biol.*, 78. 131–39.
- Perini, F. – Cendron, F. – Rovelli, G. – Castellini, C. – Cassandro, M. – Lasagna, E. (2021): Emerging genetic tools to investigate molecular pathways related to heat stress in chickens: A review. *Animals*, 11. <https://doi.org/10.3390/ani11010046>.
- Rao, X. – Huang, X. – Zhou, Z. – Lin, X. (2013): An improvement of the 2⁻(-Delta Delta CT) method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostatistics, Bioinformatics and Biomathematics*, 3. 71–85.
- Rojas-Downing, M. M. – Nejadhashemi, A. P. – Harrigan, T. – Woznicki, S. A. (2017): Climate change and livestock: Impacts, adaptation, and mitigation. *Climate Risk Management*, 16. 145–63.

- Sasaki, H. – Matsui, Y. (2008): Epigenetic events in mammalian germ-cell development: Reprogramming and beyond. *Nature Reviews Genetics*, 9. 129–40. <https://doi.org/10.1038/nrg2295>.
- Sun, Y. C. – Wang, Y. Y. – Ge, W. – Cheng, S. F. – Dyce, P. W. – Shen, W. (2017): Epigenetic regulation during the differentiation of stem cells to germ cells. *Oncotarget*, 8. 57836–44. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18444>.
- Tagami, T. – Miyahara, D. – Nakamura, Y. (2017): Avian primordial germ cells . In *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1001:1–18. Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-981-10-3975-1_1.
- 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. <https://doi.org/10.3390/ani11061575>.
- Verdikt, R. – Allard, P. (2021): Metabolo-epigenetics: The interplay of metabolism and epigenetics during early germ cells development. *Biol. Reproduct.*, 105. 616–624.
- 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. 1171–1182.
- Wu, J. – Zhang, W. – Li, C. (2020): Recent advances in genetic and epigenetic modulation of animal exposure to high temperature. *Frontiers in Genetics*, 11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00653>.

Érkezett: 2023. július

A szerzők címe: Lázár B. – Tokodyné Szabadi N. – Tóth R. – Ecker A. – Urbán M. – Gócza E.
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus, Genetika és
Biotechnológia Intézet, Állatbiotechnológia Tanszék

Authors' adress: Hungarian University of Agriculture and Life Science, Szent István Campus
Institute of Genetics and Biotechnology, Animal Biotechnology Department
H-2100 Gödöllő, Szent-Györgyi Albert u. 4.
gocza.elen@uni-mate.hu

Lázár B. – Várkonyi E. – Liptói K.
Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ Haszonállat-génmegőrzési
Intézet
National Centre for Biodiversity and Gene Conservation,
Institute for Farm Animal Gene Conservation
H-2100 Gödöllő, Isaszegi út 200.