

Epigenetikus hatások a nyúlnál:

A méhen belüli pozíció

következményei

Doktori értekezés

Bánszegi Oxána

Etológia Tanszék, Biológia Intézet, Természettudományi Kar, Eötvös Loránd
Tudományegyetem,
Budapest, Magyarország

Témavezető

Dr. Bilkó Ágnes

Etológia Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest, Magyarország

Konzulens

Dr. Altbücker Vilmos

Etológia Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest, Magyarország

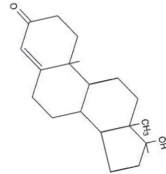
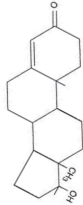
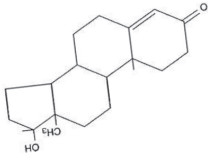
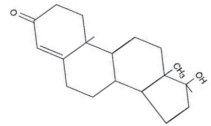
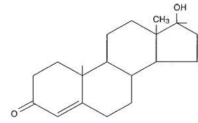
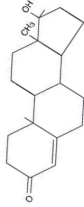
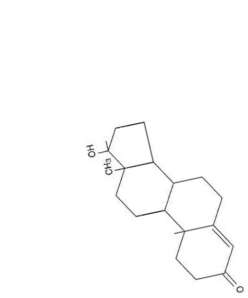
Biológia Doktori Iskola

Doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Erdei Anna

Etológia Doktori Program

Doktori program vezetője: Dr. Miklósi Ádám

– Budapest, 2012 –



1. ÁLTALÁNOS BEVEZETŐ:	1
1.1. A SZÜLETÉS ELŐTTI HORMONÁLIS HATÁSOK	3
1.2. A MÉHEN BELÜLI POZÍCIÓ HATÁSAI A MAGZATI FEJLŐDÉSRE	5
1.3. KÍSÉRLETI ALANYUNK RÉSZLETES ISMERTETÉSE:	16
2. SAJÁT VIZSGÁLATOK:	22
2.1. CÉLOK, KÉRDÉSEK ÉS HIPOTÉZISEK:.....	22
2.2. ÁLTALÁNOS ANYAG ÉS MÓDSZER:	24
3. A VIZSGÁLATOK LEÍRÁSA	26
3.1. VIZSGÁLAT: MÉHEN BELÜLI POZÍCIÓ HATÁSA A MORFOLÓGIÁRA ÉS A VISELKEDÉSRE SZÜLETÉSKOR ÉS FELNŐTT KORBAN HÁZINYULAKNÁL ...	26
3.2. VIZSGÁLAT: MÉHEN BELÜLI SORREND HATÁSA A SZÜLETÉSI SÚLYOKRA HÁZINYÚLNÁL	37
3.3. VIZSGÁLAT: SZÜLETÉS ELŐTTI TESZTOSZTERON KEZELÉS HATÁSA A MORFOLÓGIÁRA ÉS A VISELKEDÉSRE HÁZINYULAKNÁL	42
3.4. VIZSGÁLAT: A GÁTMÉRET, ALOMMÉRET, IVARARÁNY ÉS ATTRAKTIVITÁS KAPCSOLATA NŐSTÉNY NYULAKNÁL.....	53
4. ÁLTALÁNOS DISZKUZZIÓ:	63
4.1. A MÉHEN BELÜLI POZÍCIÓ REPRODUKCIÓS HATÁSAI:	63
4.2. HOGYAN BEFOLYÁSOLJA A BAKOK VÁLASZTÁSÁT A NŐSTÉNY PRENATÁLIS ELŐÉLETE?	67
4.3. POPULÁCIÓS HATÁSOK:.....	69
5. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA:	71
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS:.....	72
IRODALOM:.....	73

A DOLGOZATBAN SZEREPLŐ RÖVIDÍTÉSEK LISTÁJA:

IUP: intrauterine position – méhen belüli pozíció

AGD: anogenital distance – gátméret

NAGD: normalizált AGD – $AGD / \text{súly} * 100$

0M nőstény: Méhen belül 0 hím szomszédal rendelkező nőstények

1M nőstény: Méhen belül 1 hím szomszédal rendelkező nőstények

2M nőstény: Méhen belül 2 hím szomszédal rendelkező nőstények

ULO: unilaterális ovariectomizáció – egyoldali méhszerv eltávolítás

NE: nemzetközi egység, hormon dózis mértékegysége

mg: milligram

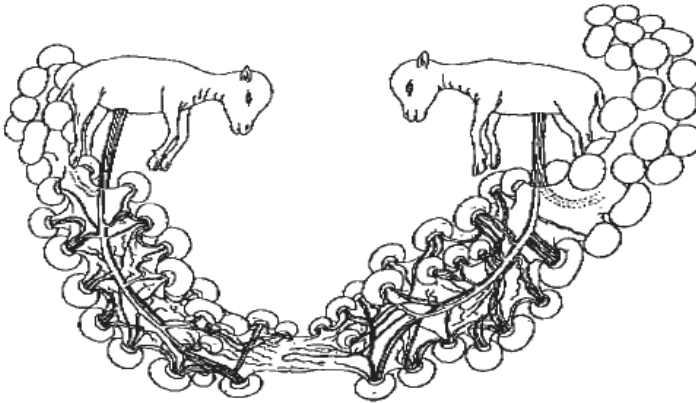
µg: mikrogram

T: tesztoszteron

TP: tesztoszteron-propionát

1. Általános bevezető:

Több mint két évszázada jelent meg az első tudományos leírása annak a – marhatenyésztők körében jól ismert – jelenségnek hogy, ha egy tehén két utódnak ad egyszerre életet és azok közül az egyik hím, a másik pedig nőtény, akkor az utóbbi felnőve a legtöbb esetben alkalmatlan lesz a szaporodásra (Hunter 1779). Ezek a hím ikertestvérrel rendelkező, úgynevezett „freemartin” nőtények, sok esetben differenciálatlan belső ivarszervvel rendelkeznek. Tudományos magyarázatot erre a fenotípusos jelenségre csak a 20. század elején publikáltak, ráadásul egymástól függetlenül két szerző is (Tandler and Keller 1911; Lillie 1916; Freeman 2007). Már akkor feltételezték, hogy létezhetnek bizonyos maszkulinizáló faktorok, melyek átjutnak a hím magzatból a nőtény magzatba, így befolyásolva annak morfológiáját. Szarvasmarhákon írták le először azt is, hogy az anyaméhben ikerterhesség esetén az utódok magzatburkának erei összeolvadhatnak, közös vérellátást kialakítva, amin keresztül a hím állatban termelődő hormonok átjuthatnak a nőténybe (Lillie 1916). Ezt a jelenséget később több fajon, többek közt birkán, (Roberts and Greenwood 1928), kecskén (Ilbery and Williams 1967) és sertésen (Hughes 1929) is leírták. Amennyiben az erek nem olvadnak össze, akkor a nőtények fejlődése normálisan megy végbe, mint ahogy az a legtöbb iker, vagy az egyszerre többet ellő emlősök esetében történik (Lillie 1917).



1.1 Kép. Keringési rendszer összeolvadása a méhben egy hím és egy nőstény utód közt. A hím utód által termelt hormonok átjutnak a nősténybe, ahol a belső – de nem a külső – nemi szervek maszkulinizálódását okozzák.

Forrás: Capel and Coveney (2004).

A freemartin szindróma egyik legfontosabb jellemzője, hogy a külső nemi szervek maszkulinizációja gyakran nem figyelhető meg. Jost (1972) feltételezte, hogy a freemartin szindróma hátterében nem csak a születés előtti, androgéneknek való kitettség áll. Vizsgálatában androgénekkel kezelt vemhes marhákat, azonban ezek nőstény utódainak külső nemi szervei maszkulinizálódtak ugyan, de a belsők rendesen kifejlődtek. Ebből arra következtetett, hogy a freemartin nőstényekben található differenciálatlan nemi szervek kifejlődéséhez nemcsak a hormonok, hanem a magzatburok ereinek összeolvadása és ezen keresztül a vérsejtek cseréje is szükséges. Az így fejlődő utódok azonban már nem csak testvérek, hanem a közös vérellátásból adódóan másodlagos kimerák.

Házi egereknél a szomszédos magzatok placenta összeolvadása nagyjából százból egy esetben figyelhető meg (vom Saal 1989). Esetükben azonban kialakul egy kötőszöveti elválasztó sáv a placenták között (McLaren and Michie 1959). Úgy tűnik, hogy az egyszerre többet ellő emlősök esetében, mint amilyen az egér is, ahol sokkal nagyobb a valószínűsége a placenta összeolvadásnak, kifejlődhetett egy védelmi mechanizmus a freemartin szindróma ellen.

Másodlagos kiméra:

Kimérának nevezik azokat az élőlényeket, melyek kettőnél több ivarsejtből jöttek létre. Elsődleges kiméráknak nevezik, ha a megtermékenyülés során lép fel a genetikai többlet. Másodlagos kimérák azonban az egyedfejlődés későbbi szakaszaiban alakulnak ki sejtsere vagy más transzplantáció révén. Ilyen sejtsere, ha a méhlepény véredényei összeolvadnak és az anyai sejtek, vagy a szomszédos embriók sejtei cserélődnek ki.

1.1. A születés előtti hormonális hatások

Egy almon belül az azonos nemű egyedek, morfológiájukban és viselkedésükben is igen eltérhetnek egymástól, de ezek a különbségek nem csak a genetikai háttérnek köszönhetőek. A magzati fejlődés alatt fellépő epigenetikus hatások közé tartoznak, a korábban már említett maskulinizáló faktorok. Phoenix és mtsai. (1959) úgy gondolták, hogy ezek a faktorok a szteroid hormonok, melyek a fejlődő idegrendszer jellemző vonásait szervezik.

Az utód genetikai neme a megtermékenyítéskor eldől. Azonban, hogy morfológiailag hím vagy nőstény lesz, az a magzati korban differenciálódó ivari traktusok alapján alakul ki. A szexuális differenciáció – a fejlődés korai szakaszában – nagyban függ a magzatra ható androgénektől. Az agy alap állapota, és a genitáliák fejlődése is alapvetően női irányba halad. A hím ivarmirigy kifejlődéséhez az Y kromoszómán található egyik gén terméke nélkülözhetetlen. Ennek a fehérjének a hatására zárulnak a hámgerendák csövekké a gonadtelepben és indul el a herék kialakulása. A fejlődő here által termelt androgének hatására alakulnak ki a nemi különbségek. Az androgének befolyásolják a genitáliák további fejlődését is, hatásukra anti-Müller hormon termelődik, mely a Müller-vezetékben sejtpusztulást indít meg (Jost

1947). Ezzel párhuzamosan a Wolf-cső differenciálódik ondóvezetővé, mellékherévé. Ha nem alakul ki, vagy nem fejlődik ki megfelelően a here, akkor androgének nem termelődnek és a Müller-cső tovább fejlődik a női irányba, petevezetővé, méhvé, vaginává. Erre a hímeknél bekövetkező természetes maszkulinizációs folyamatra több egyéb faktor is hathat, melyek morfológiai változásokat és diszfunkcionális viselkedést eredményezhetnek az utódok fejlődésének későbbi szakaszaiban.

A tesztoszteron, vagy annak valamelyik metabolitja hat a központi idegrendszer azon részeire, amelyek a későbbi szexuális viselkedésért felelősek. Rágcsálókön végzett vizsgálatokban kimutatták, hogy a hím magzatok tesztoszteront termelnek, és a méhen belüli fejlődésüknek egy bizonyos szenzitív időszakában befolyásolják a saját fejlődő agyuk ivari differenciálódását (Harris and Levine 1965; vom Saal 1978; MacLusky and Naftolin 1981). Az androgének koncentrációjának változása módosítja a differenciáció mértékét is. A hímek magzati fejlődésük alatt korábban és nagyobb mennyiségben kezdik termelni a tesztoszteront, mint a nőstények. A hímekben a magzati tesztoszteron termelődése az ivari differenciálódás napján éri el a csúcát (Ward and Weisz 1980; Baum, Woutersen et al. 1991; Wallen and Baum 2002).

A hormonális imprinting lényege, hogy megfelelő időben kis mennyiségű hormon is hosszú távú és visszafordíthatatlan változásokat idézhet elő. Ilyen organizációs hatás jelentkezhet a központi idegrendszer visszafordíthatatlan szexuális differenciálódásában.

1.2. A méhen belüli pozíció hatásai a magzati fejlődésre

A többet ellő emlősnéknél a magzatok méhen belüli pozíciója hatással van fejlődésükre. A tesztoszteron képes átdiffundálni a magzatburkon és a magzatvízen (Even, Dhar et al. 1992; vom Saal and Dhar 1992), így egy magzat elhelyezkedése a többi közt a méhszarvban, befolyásolja, hogy mennyi, a szomszédok által termelt hormon éri (vom Saal, Clark et al. 1999; Arnold 2002; Ryan and Vandenberg 2002; Wallen and Baum 2002). A fejlődő magzatot ért tesztoszteron mennyisége alapvető fontosságú, és a hatása hosszú távú lehet (Ward 1971).

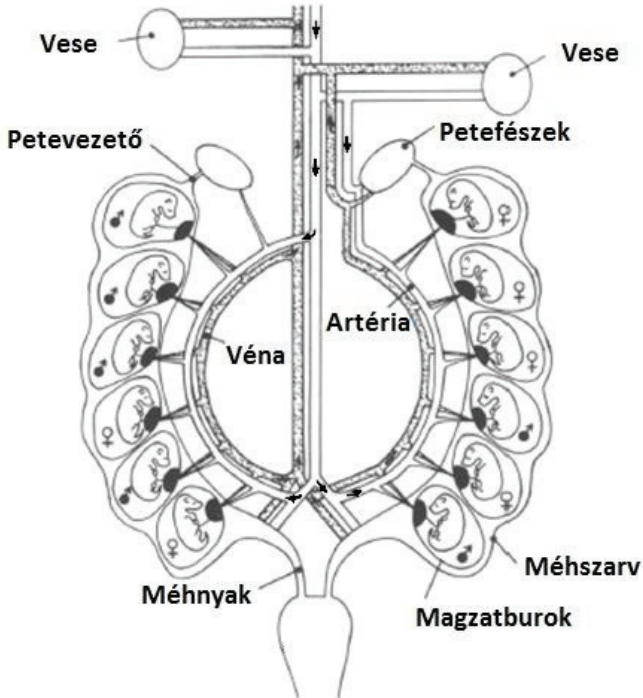
Ennek következményeként az egyszerre többet ellő emlősök (beleértve az embereket is) esetében egy utód méhen belüli pozíciója (Intrauterine Position, IUP), úgymond magzati szomszédsága, számos morfológiai és viselkedésbeli változatot eredményezhet (vom Saal 1989; Clark and Galef 1998; vom Saal, Clark et al. 1999). A szteroid hormonok diffundálása a magzatok közt nemcsak a fejlődésüket befolyásolja, de növeli az egy almon belüli fenotípusos különbséget az egyedek között. Ezáltal az IUP ezekben a fajokban egy epigenetikus hatás lesz a fenotípusra, genetikai variancia nélkül.

Két hipotézis született a méhen

A kaudálisan elhelyezkedő hím

A születés előtti hormonális hatások vizsgálata során felvetődött egy másik hipotézis. A kaudálisan elhelyezkedő hímhatás („caudal male hypothesis”) mellett érvelők feltételeztek egy másik mechanizmust az IUP hatás hátterében. Az elmélet szerint a nőstényektől kaudálisan elhelyezkedő hímek sokkal nagyobb hatással vannak a fejlődésükre, mint akár egy közvetlen disztális hím szomszéd, mivel a hímek által termelt hormonok a méh keringési rendszerébe kerülve méhnyaktól a petefészek felé áramolva hatnak nőstény testvéreikre. Azonban ennek a hipotézisnek az alátámasztására igen kevés eredmény született (Meisel and Ward 1981; Richmond and Sachs 1984; Krohmer and Baum 1989; Houtsmuller and Slob 1990). Továbbá az elméletet nem támasztják alá azok az egereken és patkányokon végzett vizsgálatok sem, melyek során nem találtak különbséget a vemhes anyák tesztoszteron szintjében, annak függvényében, hogy milyen volt az almaik ivararánya vemhességük alatt (vom Saal and Bronson 1980; Houtsmuller, De Jong et al. 1995). A későbbiek során pedig a méh vérkeringésének feltárása a fent említett fajokban szintén cáfolta ezt a hipotézist (Even, Dhar et al. 1992; vom Saal and Dhar 1992).

belüli hatás mechanizmusának magyarázatára. A legszélesebb körben elfogadott hipotézis, a közvetlen hím szomszéd hatás („contiguous male hypothesis”) szerint, a tesztoszteron a magzatburkon és magzatvízen keresztül átdiffundálva a hím magzat közvetlen szomszédaira hat. Azok a nőstények, melyek két hím között fejlődnek a méhben (2M-es nőstények), nagyobb mennyiségű tesztoszteronnak vannak kitéve, erőteljesebb maszkulinizációt mutatnak fejlődésük későbbi szakaszaiban, mint azok a nőstények, amelyeknek csak egy hím szomszédja van (1M-es nőstények), vagy amelyeknek egyáltalán nincs (0M-es nőstények) (vom Saal and Bronson 1980).



1.2. Kép. Egér méhszarv és méh keringésének sematikus ábrája, a benne fejlődő embriókkal. A nyilak a vér áramlásának irányát mutatják. Az artéria és véna hurkot képez. Mind a petefészek, mind a méhszáj felől érkezik artériás vér a fejlődő magzatokhoz, biztosítva azok vérellátását és mindkét irányba távozik vénás vér (Even, Dhar et al. 1992; vom Saal and Dhar 1992).

1.2.1. A magzati fejlődés fiziológiája

A felnőttkori viselkedésbeli változatosság annak is lehet a következménye, hogy az egyedek már magzati korban eltérő fiziológiával rendelkeznek. Több emlős fajnál kimutatták, hogy a hím magzatoknak magasabb a vérplazma tesztoszteron szintje, mint a nőstényeknek (házi egér: vom Saal (1981); vom Saal, Quadagno et al. (1990); mongol futóegér: Clark, Crews et al. (1991); patkány: Houtsmuller, De Jong et al. (1995); Hernandez-Tristan, Arevalo et al. (1999); sertés: Wise and Christenson (1992); görény: Baum, Woutersen et al. (1991)). Házi egerek és mongol futóegerek esetében a nőstények közt is találtak különbséget a vérük és magzatvizük tesztoszteron koncentrációjában, attól függően, hogy mennyi közvetlen hím szomszédjuk volt a méhen belül. A 2M-es nőstény magzatoknak magasabb a tesztoszteron koncentráció a vérében és a magzatvizében, mint a 0M-es magzatoknak (vom Saal 1981; vom Saal, Quadagno et al. 1990; Clark, Crews et al. 1991). Egy görényeken készült tanulmány esetében pedig leírták, hogy a legalább 2 vagy több hímhez képest kaudálisan elhelyezkedő nőstény magzat androgén szintje magasabb azokhoz képest, akik 0 vagy 1 hímhez képest fekszenek kaudálisan (Krohmer and Baum 1989). Sertéseknél és patkányoknál azonban nem találtak semmilyen összefüggést sem a szomszédos, sem a kaudálisan elhelyezkedő hímek számában és a nőstény magzatok androgén koncentrációjában (Baum, Woutersen et al. 1991; Wise and Christenson 1992).

Bár az itt leírt fajok nőstényeinek tesztoszteronszint-beli különbsége felnőtt korra nagyrészt eltűnik – egyedül mongol futóegerek esetében mutatták ki ivarérett állatoknál is (Clark, Crews et al. 1991) – a tesztoszteronra való érzékenységükben maradandóan eltérnek. 2M-es nőstény házi egerek felnőtt korban tesztoszteron kezelés hatására hamarabb válnak agresszív, mint 0M-es nőstény testvéreik (Gandelman, vom Saal et al. 1977; vom Saal and Bronson 1980).

Az IUP befolyásolhatja az ivaréret és a reprodukív kapacitást is. Házi egerek, patkányok és mongol futóegerek esetében is leírták, hogy a 2M-es nőstények ivarérese később következik be, mint 0M-es nővéreiké (McDermott, Gandelman et al. 1978; vom Saal and Bronson 1978; Clark and Galef 1988; vom Saal 1989; Zehr, Gans et al. 2001). Ezek a nőstények nehezebben és később is vemhesülnek, és kevesebb életképes almot hoznak világra életük során, mint 0M-es nővéreik (vom Saal 1981; vom Saal and Moyer 1985; Kinsley, Konen et al. 1986; Drickamer 1996).

Az IUP ugyancsak hatással lehet a nőtények almainak méretére és azok ivararányára is. A 2M-es mongol futóegér nőtények kisebb almokat hoznak világra és azokban az ivararány a hímek felé tolódik (Clark and Galef 1995a; Clark and Galef 1995b; Clark, Vonk et al. 1997). Hasonló eredményeket kaptak házi egerek esetében is (Hirlemann, Spetz et al. 1990; Vandenbergh and Huggett 1994; Vandenbergh and Huggett 1995; Drickamer 1996).

1.2.2. A méhen belüli hormonális hatások anatómiai következményei

Számos fajnál már a születéskor megfigyelhető némi szexuális differenciáció a morfológiában, legalábbis a genitáliáknál. A gátméret, vagyis az ivar- és végbélnyílás közti távolság (anogenital distance, AGD) mérete nemtől függően változik, a hímeknek nagyobb, mint a nőtényeknek (Clark and Galef 1995b; Drickamer 1996; Cantoni, Glaiot et al. 1999). Ez a jelenség az embernél is megfigyelhető (Salazar-Martinez, Romano-Riquer et al. 2004). Több emlős faj esetében kimutatták, hogy a nőtények AGD-je változik a hím szomszédok számának függvényében, a 2M-es nőtényeknek nagyobb lesz a gátmérete, mint a 0M-es nőtényeknek, az 1M-esek átmenetet mutatnak a kettő között (Gandelman, vom Saal et al. 1977; Clemens, Gladue et al. 1978; McDermott, Gandelman et al. 1978; vom Saal and Bronson 1978; Tobet, Dunlap et al. 1982; Zielinski, Vandenbergh et al. 1991; Palanza, Parmigiani et al. 1995; Vandenbergh and Huggett 1995; Drickamer, Arthur et al. 1997).

A kaliforniai egér (*Peromyscus californicus*), szintén hasonlóságot mutat a többi rágcsálóval a gátméret morfológiájának trendjében, annak ellenére, hogy elválasztás előtti korig a két nem gátmérete átfed, csak utána különül el. Mind születéskor, mind felnőtt korban azoknak a nőtényeknek nagyobb az AGD-je, melyeknek az almában az ivararány legalább 75% volt (Cantoni, Glaiot et al. 1999). Megjegyzendő, hogy ennek az egérnek az átlagos alommérete 2, és ezt a vizsgálatot csak olyan almokon végezték, melyekben minimum 4 állat volt, így a vizsgált nőtények, amennyiben fiús alomból származtak, igen nagy eséllyel helyezkedtek el 2 hím közt a méhen belül.

Számos születés előtti androgén kezelés vizsgálatával igazolták, hogy többek között a tesztoszteron az, ami hatással van a gátméretre és dóziszfüggően fejt ki hatását (Gandelman, Simon et al. 1979; Hoepfner and Ward 1988; Wolf, Hotchkiss et al. 2002). Ugyanakkor a születés előtti anti-androgén (flutamid, ciproteron-acetát) kezelése

eltüntetik a méhen belüli hím szomszédok hatására bekövetkező maszkulinizációt (Clemens, Gladue et al. 1978; vom Saal 1978; McIntyre, Barlow et al. 2001). Ebből adódóan az AGD egy széles körben használt biomarkere lett a méhen belüli pozíció hatásának.

Felvetődik, hogy az állat testsúlya befolyásolhatja az AGD méretét. Házi egerek születés kori súlyát vizsgálva nem találtak súlykülönbséget a nemek közt, vagy a nemeken belül a méhen belüli pozíciójuk függvényében (McDermott, Gandelman et al. 1978; vom Saal and Bronson 1978), azonban a fejlődésük későbbi szakaszában már kialakul különbség mind a nemek közt, mind a nemeken belül. A hímek nehezebbek lesznek a nőstényeknél (Kinsley, Miele et al. 1986b; Kerin, Vogler et al. 2003) és mindkét nem esetében a 2M-esek nehezebbek a 0M-eseknél (Kinsley, Miele et al. 1986b; vom Saal 1989).

Ezekből adódóan érdemes mindkét változót külön mérni és analizálni, vagy – ahogy egyes szerzők javasolják, a pontosabb eredmény érdekében – az AGD-t leosztani a súllyal és az így kapott normalizált AGD-vel (NAGD) számolni (Graham and Gandelman 1986; Vandenberg and Huggett 1995). Azonban több olyan tanulmány is született, mely szerint a súly nem befolyásolja számottevően az AGD méretét. Ezekben a cikkekben egy másik módszert javasolnak, ami talán a legjobban oldja meg a problémát. Kovariancia analízis használatával dolgoznak, melyben a súly kovariánsként szerepel (vom Saal 1978; vom Saal and Dhar 1992; Gallavan, Holson et al. 1999; Elswick, Miller et al. 2001; Palanza, Morley-Fletcher et al. 2001). Mindezek alapján egy állat AGD méretéből – akár születéskor, akár felnőtt korban – következtetni lehet méhen belüli pozíciójára, és ezáltal számos fiziológiai és viselkedéssel kapcsolatos tulajdonságára. Az AGD, mint a méhen belüli hormonkitettség biomarkere, egy egyszerűen és nem invazív módon vizsgálható változó, akár vadon befogott állatoknál is (Vandenberg and Huggett 1995).

Bár az AGD és a súly a leggyakoribb morfológiai változó, melyeket a születés előtti hormonális kitettség függvényében vizsgálnak, az nem csak ezekre van hatással. Sertéseknél megfigyelték, hogy a magas hím ivararányú alomból származó nőstényeknek kevesebb emlőjük fejlődik, mint azoknak melyeknek több nőstény testvérük volt (Drickamer, Rosenthal et al. 1999). A születés előtti tesztoszteron kezeléssel hasonló hatás érhető el nőstény patkányoknál is (Wolf, Hotchkiss et al.

2002). Az IUP befolyásolja a központi idegrendszer fejlődését is: hím patkányoknak nagyobb a hipotalamusz preoptikus áréájában található szexuálisan dimorf magja (SDN-POA), mint a nőstényeknek, továbbá a nagy AGD-s nőstényeknek nagyobb a SDN-POA-ja, mint a kis AGD-s nőstényeknek (Faber and Hughes 1992). 2M-es nőstények esetében a hipotalamuszban megnövekedett citokróm-oxidáz aktivitás és a gátizmok gerincvelői magjában is több mozgató neuron található, mint a 0M-esek esetében (Forger, Galef Jr et al. 1996). Ugyan egyes fajoknál (mongol futóegerek és házi egerek) ezeket az eltéréseket nem tudták igazolni (Bulman-Fleming and Wahlsten 1991; Sherry, Galef Jr et al. 1996), elmondható, hogy az IUP sok esetben hatással van a központi idegrendszer bizonyos részeire, és – akár ezen keresztül – hatással lehet számos viselkedési formára is.

1.2.3. A viselkedés és a méhen belüli pozíció kapcsolata

A születés előtti hormonális környezet befolyásolhatja egy állat viselkedését is. A 0M-es nőstény házi egerek attraktívabbak a hímek számára, azok szívesebben párzanak velük, mint a 2M-es nőstényekkel. Ez a vonzalom részben a szaganyagokon alapulhat. A vizelettel és ivarmirigyek váladékával való területjelölés az egerek esetében az agresszió egyik formája, és ez a viselkedés a 2M-es nőstényekre jellemzőbb, mint a 0M-es nőstényekre (Mugford and Nowell 1971). A hímek sokkal jobban vonzódnak egy kis AGD-s (valószínűleg 0M-es) nőstény szagához, mint egy nagy AGD-séhez (Drickamer, Robinson et al. 2001). A 2M-es nőstények agresszívebbek – vemhesen és szoptatás alatt is – mint 0M-es testvéreik (vom Saal and Bronson 1978; Kinsley, Konen et al. 1986; Quadagno, McQuitty et al. 1987). Ez az agressziós szint különbség alacsonyabb szorongási szinttel állhat kapcsolatban, vagyis a 2M-es nőstények kevesebb harc elkerülést mutatnak, mint a 0M-esek (Hauser and Gandelman 1983).

Azok a nőstények (házi egerek és patkányok), amelyeket embrionális korban – akár szomszédos hím embriótól, akár külsőleg adagolt – extra tesztoszteron hatás ért, az ivarérettség követően, tesztoszteron kezelés hatására, sokkal gyorsabban és intenzívebben reagálnak. Előbb kezdeményeznek harcot, többet üldözik és harapják társaikat, a nőstényekre jellemző párási viselkedési minták (mint a lordozis-pozíció) mutatása lecsökken, és inkább a hímekre jellemzőket mutatják (másik nősténnyel való párázás), mint a születésük előtt extra tesztoszteronnal nem kezelt, vagy a 0M-es nőstények

(Clemens, Gladue et al. 1978; Gandelman, Simon et al. 1979; Gandelman, Rosenthal et al. 1980; Mann and Svare 1983; Rines and vom Saal 1984; Gandelman and Graham 1986; Perakis and Stylianopoulou 1986; Hoepfner and Ward 1988; Houtsmuller and Slob 1990; Rhees, Kirk et al. 1997). Hasonló eredményeket kaptak tengeri malacokon (Phoenix, Goy et al. 1959; Brown-Grant and Sherwood 1971; Gandelman 1986) és sertéseken is (Rohde Parfet, Ganjam et al. 1990).

Néhány tanulmány azonban nem, vagy ezzel ellentétes összefüggést talált az IUP és párzási viselkedések közt. Zehr és mtsai (2001) kis AGD-s nőstény patkányoknál alacsonyabb lordozis-pozíció választ talált, mint a nagy AGD-s nőstényeknél. Két másik tanulmányban pedig semmilyen összefüggést nem találtak az IUP és a lordozis-pozíció közt (Slob and van der Schoot 1982; van de Poll, van der Zwan et al. 1982). Ezek a különbségek az eredményekben azonban a különböző vizsgálati módszerekből adódhatnak. Egyrészt különböző módszert használtak a LD kimutatására (hímmel vagy kézzel), másrészt a vizsgált csoportokat különböző módszerrel hozták létre (disztális – kaudális nőstény, kis AGD-s – nagy AGD-s nőstény, vagy a hímtestvérek száma).

1.2.4. Hormonális hatás a hím magzatokra?

A méhen belüli pozíciója nemcsak a nőstényeknél, hanem a hímek esetében is hatással lehet a morfológiájukra és a viselkedésükre. Azonban a hímek extra maszkulinizációja sokkal kevésbé vizsgált kérdéskör. Bár hímek esetében még egy tanulmány sem talált összefüggést az IUP és az AGD közt, tény hogy egereknél a nagyobb AGD-s hímek agresszívebbek, mint a kis AGD-s hímek (Drickamer, 1996).

A legtöbb vizsgálatot ebben a témában Mongol futóegér hímeken végeztek. Megállapították, hogy azoknak a hímeknek, melyek 2 másik hím közt fejlődnek a méhben (2M hím) mind magzati, mind felnőtt korban magasabb a tesztoszteron szintjük (Clark, vom Saal et al. 1992), gyorsabban és sikeresebben termékenyítenek meg nőstényeket (Clark, Malenfant et al. 1990), valamint több utódot nemzenek (Clark, Tucker et al. 1992), mint azok a hímek, melyek két nőstény közt fejlődnek a méhben (0M hím). A nőstények is különbséget tesznek közöttük, a 2M-es hímek szagjeleire aktívabban felüljelölnek és szívesebben tartózkodnak a társaságukban, mint a 0M-es hímeknek. Hím házi egereknél azonban ezzel ellentmondó eredmények születtek: a 0M-es hímeknél találtak nagyobb szexuális aktivitást (vom Saal 1989). Egy újabb kutatás

embereknél pedig azt mutatja, hogy a férfiaknál az AGD mérete összefügg a spermazámmal: kisebb AGD kevesebb spermazámmal párosul (Mendiola, Stahlhut et al. 2011).

Nemcsak a nőtények, hanem saját anyjuk is különbséget tehet saját hím utódai közt. Minél több hím szomszédja volt a méhen belül egy kölyöknek, annál több időt tölt az anyja az anogenitális tájékának nyalogatásával (Clark, Bone et al. 1989). Ennek jelentőségét norvég patkány kölykök esetében írták le, ahol az anogenitális tájék nyalogatása hatással volt a kölyök későbbi szexuális viselkedésére. A nagyobb mértékű anyai tisztogatás rövidebb ejakulációs latenciával és rövidebb pázások közötti intervallumokkal párosul felnőtt korban (Moore 1984).

A 0M-es hímek csökkent pázási sikere egyértelműen csökkenti a fitnessüket. Azonban a méhen belüli hím szomszédok felől érkező extra tesztoszteron, más olyan viselkedésbeli változásokat is okozhat a 2M-es hímeknél, melyek a 0M-es hímek hátrányát kompenzálhatja. Számos fajnál leírták (főleg madarak esetében), hogy az emelkedett tesztoszteronszint fokozott szexuális viselkedéssel, de csökkent szülői viselkedéssel párosul (Ketterson and Nolan V. 1992). Mongol futóegereknél ugyan egy 0M-es hím kevésbé sikeres a pázásban, de ezt az fokozott apai viselkedéssel, magasabb szintű utódgondozással kompenzálhatja (Clark, Desousa et al. 1997). Házi egerek esetében azonban ennek is pont az ellenkezőjét találták. A 2M-es hímek kisebb arányban támadták meg az újszülötteket és magatartásuk a kölyök felé egy szoptató nőtényéhez volt hasonló (vom Saal 1989).

A hímek esetében, a méhen belüli szomszédság hatására kialakuló különbségek főleg a viselkedésükben jelennek meg. A fajoként eltérő irányú változások hátterében, talán az adott fajok pázási rendszereinek különbözősége áll.

Vadon élő populációk:

A fent említett, a témát megalapozó vizsgálatok szinte mindegyike laboratóriumi emlősökön készült. A laboratóriumi kísérleti állatok legtöbbször beltenyésztett, igen kicsi közöttük a genetikai változatosság, így felmerülhet, hogy az IUP hatás akár egy laboratóriumi jelenség is lehetne. Egy vadon élő populáció genetikai változatossága elméletileg elfedheti az IUP hatását. Szerencsére már néhány tanulmány készült nem laboratóriumi állatokon, és embereken is, melyek tisztázzák ezt a felvetést. Vadon befogott házi egereken végzett vizsgálatokban hasonló eredményeket kaptak, mint a laboratóriumi egereken végzetekben. 2M-es nőstényeknek nagyobb az AGD-je, és nagyobb területet tartanak fenn, mint a 0M-esek, továbbá a nagy AGD-s nőstények több vizelet jelet tesznek, agresszívebbek és kisebb eséllyel vemhesülnek, mint a kis AGD-s nőstények (Krohmer and Baum 1989; Zielinski, Vandenbergh et al. 1991; Zielinski, vom Saal et al. 1992; Palanza, Parmigiani et al. 1995; Drickamer 1996).

Vadon élő szürkepecok (*Clethrionomys rufocanus*) nőstény egyedeit vizsgálva, azt találták, hogy azok az egyedek mutatták a legerősebb tendenciát a diszperzióra, melyek „hímesebb” alomból származtak (Ims 1989). Ezek az eredmények azt mutatják, hogy egyes nőstények ugyanúgy maszkulinizálódhatnak a születés előtti hormon kitétség függvényében, mint a laboratóriumi fajtársaik, így az IUP jelenség a genetikailag diverzebb állományokban is megtalálható.

1.2.5. Szomszédsági hatások embernél

A korábban bemutatott fajoknál megfigyelt jelenségek alapján feltételezhető, hogy iker terhesség esetén az embereknél is hatással lehetnek egymásra a magzatok. A fiúk és lányok közötti legnagyobb fejlődésbeli különbségek a magzati élet 8-24 hete alatt alakulnak ki. Ezzel egy időben, a 15-21 hét között tapasztalható a legmagasabb tesztoszteron szint a fiúknál (Smail, Reyes et al. 1981). Egy fű ikertestvérrel a méhben töltött idő alatt ezért jóval nagyobb mennyiségű tesztoszteron érheti a lánytestvért, mint lány ikerpárok esetében (Miller 1994; Miller and Martin 1995). Kevés vizsgálatot folytattak ebben a témában és az eredmények sem teljesen egybeváogók. Ellentétes nemű ikerpárok lány tagjainál maszkulinizáció figyelhető meg egyes viselkedési és

morfológiai jegyekben, többek közt az agresszív hajlamban (Cohen-Bendahan, Buitelaar et al. 2005), emelkedett szintű élménykeresésben (Resnick, Gottesman et al. 1993), evési rendellenességekben (Culbert, Breedlove et al. 2008), az agy méretében és lateralizációjában (Cohen-Bendahan, Buitelaar et al. 2004; Peper, Brouwer et al. 2009) és az auditív rendszerben is (McFadden 1993).

Lummaa és mtsai. (2007) egy, kb. 150 év adatait elemző tanulmányukban leírták, hogy a hím ikertestvérrel rendelkező nők reprodukciós sikere kisebb az azonos nemű ikerpárral rendelkező nőkéhez képest. Más tanulmányokban azonban nem találtak ilyen irányú összefüggést, amit lehet a kis elemszámnak, vagy a rövid vizsgálati időnek is tulajdonítani (Loehlin and Martin 1998; Rose, Kaprio et al. 2002; Cohen-Bendahan, van de Beek et al. 2005). Megjegyzendő azonban, hogy ezekben az esetekben az ikrek nem csak a méhben fejlődnek egy környezetben, hanem utána is egy szociális környezetben élnek és folyamatosan hatással vannak egymásra. Ez igen megnehezíti az ikreken végzett tanulmányok interpretálását, főleg azokban az esetekben, ahol nem morfológiai, hanem a születés előtti hormon hatásra bekövetkező viselkedésbeli eltéréseket vizsgálják.

1.3. Kísérleti alanyunk részletes ismertetése

1.3.1. Az üreginyúl életmódja

A laboratóriumokban és tenyészetekben használt házinyúl a vadon élő üreginyúl (*Oryctolagus cuniculus* L.) háziasított formája. Háziasítását és tenyésztését minden bizonnyal húsáért kezdték, majd könnyű tartása, gyors és egyszerű szaporítása, egyedi szaporodási és utódgondozási viselkedése miatt ideális kísérleti állattá is vált.

A nyulak a rágcsálókhoz hasonlóan éjszakai életet élnek, leginkább hajnalban és szürkületkor aktívak, a nappali időszakot a maguk ásta, nagyjából 1 méter mély, elágazó járatokkal teli, várukban töltik (Fábián and Stohl 1952; Kolb 1985; Cowan 1987). Szaporodásukban sok tekintetben eltérnek a rágcsálóktól. Szezonálisan szaporodó állatok. A nőstények indukált ovulátorok, vagyis az érett tüszők a pázás hatására szabadulnak ki a petefészkekből. Kétszarvú méhük van (Jarcho 1946). A vemhességi idő 31-32 nap, melynek utolsó napjaiban az anyaállat egy föld alatti üregben elkülönített fészket ás, és ebben hozza világra 2-6 kicsinyét. A háziasított forma 8-12 kölyköt is fialhat. Ellés után a nőstény gyakran újra párzik, s így egy szezonban akár 3-4 almot is felnevelhet.

A kisnyulak fejletlenül jönnek a világra, hőszabályozásuk még kialakulatlan, szemük, fülük csukva van, s ezek ellenére látszólag elég „szegényes” anyai gondoskodást kapnak. A szoptatási időszak kb. 1 hónapja alatt az anya naponta csak egyszer, de pontosan ugyanabban az időben 4-5 percre látogatja meg az utódokat szoptatni (Zarrow, Denenberg et al. 1965; Hudson 1985; Hudson and Distel 1986). Ez a minimális mennyiségű idő mégis elég, mivel az anya és utódai teljes szinkronizációban vannak: mire az anya beássa magát a kicsikhez, addigra azok már felébrednek és felkészülnek a szopásra.



1.3.1. Kép: Laboratóriumban készült fénykép egy nyulfészekről. Az anya ellés előtt 3-4 nappal szénát gyűjt, majd a hasáról kitépett szőrrel együtt fészket készít belőle.

A kisnyulak igen gyorsan fejlődnek. A csekély idejű anyai kapcsolat ellenére, az igen tápanyag dús anyatej elég arra, hogy 28-30 napos koruktól önálló életet kezdjenek. A születés utáni 7. nap környékén a fülük, a 10 nap táján pedig a szemük is elkezd kinyílni. 2 hetes korukra teljesen kiszőrösödnek, és az elválasztásig testsúlyuk akár 8-10 szeresére is nőhet. Az elválasztás hirtelen történik, körülbelül egy hónapos koruktól az anya egyszer csak nem látogatja többé az almot. Ez a különleges ivadékgondozás, a napi egyszeri szoptatás és az, hogy ezen kívül nincs más kapcsolat az anya és utódai között, teszi a nyulat igen ideális kísérleti állattá. A kisnyulakkal való, akár mindennapos, kísérleti munka nem befolyásolja számottevően az anya utódgondozását (Anderson, Zarrow et al. 1970).

1.3.2. Kémiai kommunikáció a nyúlánál

A nyulaknak az érzékszerveik közül – az éjszakai és föld alatti életmódnak köszönhetően – az orruk a legkifinomultabb. Emlőskönl a szagjelekkel történő kommunikáció széles körben elterjedt. Ezek a jelek, többek között információt nyújthatnak az állat fajáról, neméről, hormonális státuszáról, rangsorban való helyzetéről és akár egyedi felismerését is lehetővé teszik (Soares and Diamond 1982; Wolff, Mech et al. 2002; Johnston and Leslie Jr 2003). A legtöbb emlősnél a kommunikáció eme formája úgynevezett jelölő viselkedéssel párosul. Jelölő viselkedés az, melynek során az állat az illatmirigyének váladékát és/vagy vizeletét a talajra illetve valamilyen a környezetében található tárgyra juttatja (Johnson 1973). A jelölő viselkedésre sok esetben a szexuális dimorfizmus és főleg a hímek esetében a territorialitással, dominanciával, agresszióval való párhuzam jellemző (Ralls 1971; Mykytowycz, Hesterman et al. 1976; Gosling 1982).

A nyulak esetében több helyen találunk olyan bőrmirigyeket, melyeknek váladéka kommunikációs célokat szolgál, ilyenek például az végbélnyílás környékén, az ágyéki régióban és az áll alatt található mirigyek (Mykytowycz 1965). Az állmirigy szekrénumát az állatok különböző kiálló tereptárgyak felületére dörzsölik. Ezt a jellegzetes viselkedést nevezzük álljelölésnek. Az álljelölő aktivitás és az állmirigy mérete erős szexuális dimorfizmust mutat. A hímek többet jelölnek és állmirigyük is nagyobb, mint a nőstényeknek (Mykytowycz and Goodrich 1974; Cerbón, Camacho-Arroyo et al. 1996). Hímek esetében ez összefügg még a szexuális aktivitással és a szociális rangsorban elfoglalt helyzetével, vagyis avval, hogy mennyire maskulin, (agresszív) az állat (Mykytowycz 1965; Mykytowycz and Dudzinski 1966; Briganti, Seta et al. 2003). Az állmirigy mérete és szekrénumának összetétele nemenként és nemeken belül is eltérő. A szociális csoporton belül az állmiriggyel való jelzés segít közvetíteni egy egyed helyzetét a rangsorban, ugyanis annak váladéka az állat szociális státuszának megfelelően változik (Mykytowycz and Dudzinski 1966; Goodrich and Mykytowycz 1972). Amennyiben egy állat domináns pozícióba kerül, új alkotóelem jelenik meg a váladékban, a 2-phenoxyethanol. Ez a vegyület minden domináns egyed szekrénumában kimutatható, és egyszer sem találták meg subordináns egyedeknél (Hayes, Richardson et al. 2001; Hayes, Richardson et al. 2003). A hímek és nőstények közötti különbség főleg ivarérés után válik szembetűnővé, mivel az álljelölési

viselkedés belső, ivarmirigyekhez kapcsolt hormonális szabályozás alatt áll (Lyne, Molyneux et al. 1964; González-Mariscal, Melo et al. 1992; González-Mariscal, Melo et al. 1993). Az ivarmirigyek eltávolítása mindkét nemből erőteljesen csökkenti a jelölési aktivitást, de hímek esetében a tesztoszteron (Chrino, González-Mariscal et al. 1993; González-Mariscal, Melo et al. 1993; Martínez-Gomez, Guarneros et al. 1997), a nőstényeknél pedig a ösztrodiol adagolása visszaállítja azt (Hudson, González-Mariscal et al. 1990).



1.3.2. Kép: Felnőtt nyúl. Éjszakai életmódjuknak köszönhetően érzékszerveik közül orruk a legkifinomultabb.

Az álljelölés funkciója még nem teljesen tisztázott, de mindenképpen kommunikációs szerepe van, ami a két nem esetében eltérő lehet. Hímeknél az álljelölés frekvenciája pozitívan korrelál a tesztoszteron szintjükkel és szociális státuszukkal (Arteaga, Bautista et al. 2008). Valószínű, hogy az álljelölés egy formája a territórium megjelölésének (Mykytowycz 1962; Mykytowycz 1965), továbbá kapcsolódik a

szexuális viselkedéshez is (González-Mariscal, Melo et al. 1993). A nőstények esetében a jelölés aktivitása összefügg a reprodukciós állapottal, az erős jelölés-aktivitás csak az éppen receptív állapotú nőstényekre jellemző és szinte megszűnik a vemhesség és a szoptatás alatt (Soares and Diamond 1982; González-Mariscal, Melo et al. 1990; Hudson, González-Mariscal et al. 1990).

1.3.3. Ivari differenciáció

A nyulak születés előtti fejlődéséről ismert, hogy az ivarmirigyek a magzati kor 14. napján kezdenek differenciálódni (Allen 1904). Ettől kezdve a hím magzatok ivarmirigyének tesztoszteron szintje több tízszerese lesz a nőstényekének és ez igazolja, hogy már ebben az időszakban is van endokrin aktivitása a magzati heréknek (Veyssiere, Berger et al. 1976; Veyssiére, Berger et al. 1980). Mindkét nem reprodukciós szerveinek különböző szövetei tesztoszteront vesznek fel fejlődésük 18. napjától (Ivanova 1978). A tesztoszteron szint a hímekben a 20-21. napon éri el a maximumot, mely a szexuális differenciálódás kritikus időpontja (Ivanova 1981). A nyulak esetében is megfigyelhető a nemek közötti különbség a külső ivarszervekben: a hímeknek nagyobb a gátmérete, mint a nőstényeknek (Kurzrock, Jegatheesan et al. 2000).

A rácsalókat széles körben használják laboratóriumi kísérletekhez, mivel nemcsak tartásuk és szaporításuk egyszerű, hanem genetikailag és fenotípusosan is igen homogének. Ha figyelembe vesszük a születés előtti hormonális hatásokról szerzett ismereteket, akkor minimalizálni lehet a genetikus mellett az epigenetikus változatosságot is, így a fenotípus erősen kontrolálható. A változatosság ilyen formájú csökkentése megfelelő modellt hozhat létre a fejlődésbiológia számára.

A nyúl – habár nem rácsaló – szintén gyakran használt kísérleti alany nemcsak a fent említett okok miatt, hanem mert számos egyéb okból jól használható modell állatnak. Például hemochorial típusú placentája van, akárcsak a tengerimalacnak, patkánynak, házi egérnek vagy embernek, így ezekkel a fajokkal jól összehasonlíthatók a kapott eredmények, ezért széles körben használják a placenta átjárhatóságának és a magzatok fiziológiájának vizsgálatához (Flexner and Pohl 1941; Davies, Brown et al. 1959; Faber and Hart 1967; Kurzrock, Jegatheesan et al. 2000). A placentán keresztül

történő anyag áramlás következménye az anyai diéta hatása a magzat későbbi táplálék preferenciájára is (Bilkó, Altbäcker et al. 1994; Hudson, Schaal et al. 1999).

Az ELTE Etológia Tanszéken a nyulak nemi differenciációjával kapcsolatos vizsgálatokban több eredmény is született. Nagy egyedi változatosságot találtak felnőtt nőtény nyulak gátméretében (Dombay 1997), továbbá ezt a morfológiai sajátosságot összefüggésbe hozhatták egyéb viselkedésbeli változókkal. Dombay és munkatársai (1997) megvizsgálták a gátméret és az álljelölési

aktivitás közötti összefüggést is, és a vártnak megfelelően azt találták, hogy a nagy gátméretű nőtények többet jelöltek, mint a kis AGD-sek. A tanszéken készült további kutatások felfedték továbbá, hogy a kis és nagy gátméretű nőtény nyulak alomméretét és az ezekben lévő ivararányt összehasonlítva eltérés fedezhető fel. A kis gátméretű anyáknak nagyobb és nehezebb almaik születtek, és ezekben a hímek aránya kisebb volt, mint a nagy gátméretű anyáknak (Csatádi, Altbäcker et al. manuscript).

Hemochorial placenta:

Az a típusú placenta, melynél az anyai rétegek eltűnnek, így az anya vére közvetlen kapcsolatba kerül a magzati szövettel, a magzataburokkal. Ezáltal egy sokkal hatékonyabb anyagcsere zajlik anya és utóda közt. Nyulak esetében ez az epitális réteg vékonyabb, mint 1,5 μm és a rajta található pórusok kb. 80nm átmérőjűek (Thornburg and Faber 1976).

2. Saját vizsgálatok:

2.1. Célok, kérdések és hipotézisek

Fő céljaink között szerepelt, hogy megállapítsuk, vajon a születés előtti hormonális hatások befolyásolják-e az ivari differenciációt egy nem rágszáló fajnál, esetünkben a *Lagomorpha* családba tartozó házinyúlnál. Mivel a nyulak is egyszerre többet ellő, két méhszarvú, hemochorial placentájú állatok, így a születés előtti méhen belüli pozíció (szomszédság) befolyással lehet a nőtények morfológiájára és viselkedésére. Feltételezésünk szerint a méhen belül elhelyezkedő nőtény magzatokra hím szomszédok hatással vannak, maszkulinizálják őket a hímekből átdiffundáló tesztoszteron mennyiségének függvényében. Ezek a hatások hosszú távúak lehetnek, így nemcsak születéskor, hanem felnőtt korban is teszteltük állatainkat.

A morfológiát (pl.: testsúly) azonban nem csak a szomszédok befolyásolhatják, hatással lehet rá a méhben a kisnyúl relatív helyzete is. Ebből adódóan megvizsgáltuk, hogy a méhen belüli sorrend hogyan befolyásolta az újszülött kisnyulak növekedését a születésig. Azt vártuk, hogy a születéskori testsúly változik a méhben elfoglalt sorrend függvényében.

Rágszálókon korábban leírták, hogy az extra prenatális tesztoszteron kezelés maszkulinizációhoz vezetett a nőtény állatok esetében. Harmadik kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy nőtény nyulak morfológiájában és viselkedésében is bekövetkezik-e valamilyen szintű maszkulinizáció külsőleg adagolt tesztoszteron hatására és ezek a változások a méhen belüli hím szomszédok hatásával megegyező irányúak-e. Ezt a vizsgálatunkat is hosszú távúra terveztük, így a nemi differenciációnak nemcsak a születéskori, hanem a felnőttkori változatosságát is megismerhettük. Tesztoszteron dózis-függő maszkulinizációt vártunk mind a morfológiában, mind a viselkedésben.

Számos vizsgálat készült a születés előtti hormonális környezet témakörében laboratóriumi rágszálókon, de a vadon élő egyedeket vagy populációkat ez idáig nem sokan vizsgálták. Következő kísérletünkben megvizsgáltuk, hogy vadon élő üreginyulaknál megtalálható-e a születés előtti extra hormon kitettség következtében létrejövő morfológiai változás (gátméretbeli változatosság), és ez összefüggésben áll-e a felnövő nőtény aljának méretét és ivararányát. Korábbi vizsgálatokból ismert, hogy a

kisebb gátméretű nőtények nagyobb almokat hoznak a világra és ezekben az ivararánnyal a nőtények felé tolódik el. Azt vártuk, hogy a gátméretbeli változatosság a vadon élő üreginyúlnál is megtalálható, továbbá, hogy ez a morfológiai változó összefüggésben áll az alommérettel és ivararánnyal a fent említett módon. További lépésként megvizsgáltuk, hogy a bakok eltérően reagálnak-e a különböző gátméretű nőtényekre azok álljelei alapján. Hipotézisünk szerint a bakok képesek kiválasztani a jobb szaporodó képességű nőtényeket, így a kis gátméretű nőtények jeleire jobban reagálnak majd.

2.2. *Általános anyag és módszer*

A tesztekben résztvevő állatok Csincilla fajtájú házinyulak vagy vadon befogott üreginyulak fogságban született utódai voltak. A vizsgálatok legtöbbjét az ELTE-TTK Etológia Tanszék gödi Biológiai Állomásának tenyészházában végeztük. Amennyiben a vizsgálatra más helyszínen került sor, azt az aktuális fejezetben külön emlitem.

A tenyészházban az állatokat standard nyúlketrecben (45*55*65 cm) egyesével tartottuk. Nyúltáp (Galgavit Rt.) és víz egész nap rendelkezésükre állt. Az automatikus megvilágítás 14 óra világos és 10 óra sötét periódust biztosított, a hőmérsékletet állandó, 18°C és 21°C fok között tartottuk. A pároztatások minden alkalommal hagyományos módon történtek, a nőtényeket a bakok ketrecébe raktuk, majd a sikeres párzás észlelése után visszahelyeztük őket a saját ketrecükbe. A nyulak szaporodására az indukált ovuláció jellemző, vagyis a bak sikeres párzása váltja ki a peték kiszabadulását a petefészekből (Heape 1905). A vemhesség 28. napján egy 30*30*40 cm-es műanyag ellető ládát helyeztünk a ketrec oldalához, valamint szénát adtunk a nőtényeknek, hogy a ládába fészket építhessen. Az ellés után, mely a 30-32. napon történik, az ellető ládát lezártuk. Ekkor minden kisnyúl egyedi jelölést kapott a fülük belső felén különböző színű alkoholos filctollal, így fejlődésük egyedileg követhető volt. A további napokon a szoptatás időpontja általunk kontrolálva, naponta egyszer, délelőtt 9-10 óra között történt (Venge 1963; Zarrow, Denenberg et al. 1965). Általános eljárás volt, hogy az első két hétben a szoptatás után minden kisnyulak kézbe vettünk és lemértük a súlyukat.

A nyulak esetében a születést követő első héten, a szoptatást megelőző illetve azt követő 15-30. percben van egy szenzitív periódus, amikor rendkívül érzékenyen reagálnak a különféle külső hatásokra (Bilkó and Altbäcker 2000). Ebben a kritikus periódusban a nyulakat ért ingerek akár egész életükre hatással lehetnek (Insel and Young 2001). Így ha a kisnyulak ebben az időszakban emberrel találkoznak, megismerik annak szagát, alakját, emiatt később, még felnőtt korukban is csökkent félelmi reakciót mutatnak felé. Ezzel a minimális kontaktussal elérhető, hogy az állatok a későbbi tesztekben ember jelenlétében is természetesen viselkedjenek. A kicsiket 28 napos korukban választottuk el anyjuktól, ekkor egyedi krotáliát kaptak a fülükbe, majd egyesével külön ketrecbe kerültek.

Az adatok elemzéséhez SPSS program 9.0-es (SPSS 1998) és STATISTICA 8.0-ás (Inc. 2007) verzióját használtuk.

A kísérleteket az EU közösség 1986 évi (86/609/EEC) direktívájával összhangban végeztük.



2.2. Kép: Újszülött kisnyúl. Az újszülött kisnyulak fejletlenül, csupaszon jönnek a világra, szemük, fülük csukva. Egyedül a szaglászukra támaszkodhatnak.

3. A vizsgálatok leírása

3. 1. Vizsgálat:

A méhen belüli pozíció hatása a házinyulaknál a morfológiára és a viselkedésre születéskor és felnőtt korban.

Megjelent:

Physiology & Behavior, 2009, Volume 98, Issue 3, Pages 258-262.

Bánszegi, O., Altbäcker, V. & Bilkó Á.

Intrauterine position influences anatomy and behavior in domestic rabbits

3.1.1. Bevezető

Emlős állatoknál a méhben a magzatokat érő hormonok befolyásolják azok fejlődését (vom Saal and Bronson 1980; Even, Dhar et al. 1992). A maskulinizáció folyamatában ezen anyagok közül a tesztoszteron játssza a legnagyobb szerepet. A hím magzatok – fejlődésük bizonyos szenitív szakaszában – tesztoszteront termelnek, és ezáltal befolyásolják a saját ivari differenciálódásukat (Harris and Levine 1965; vom Saal 1978). Azonban a tesztoszteron képes átdiffundálni a magzatburkon, így hatással van a szomszédos testvérekre is (Even, Dhar et al. 1992; vom Saal and Dhar 1992). Egy magzat méhen belüli pozíciója, úgymond szomszédsága, befolyásolja, hogy mennyi, a szomszédok által termelt hormon éri (vom Saal, Clark et al. 1999).

Rágcsálók esetében az AGD vizsgálata az egyik legkönnyebben kivitelezhető, nem invazív módszer a méhen belül a magzatot ért tesztoszteron arányának megállapítására (Gandelman, vom Saal et al. 1977; McDermott, Gandelman et al. 1978; vom Saal and Bronson 1978; Palanza, Parmigiani et al. 1995; Vandenberg and Huggett 1995). Az AGD egy gyakran használt biomarker, mellyel megbízhatóan jósolhatók bizonyos morfológiai és viselkedésbeli jellemzők ivarérett állatok esetében is.

A hím nyúl magzatok ivarmirigyei a magzati kor 14. napján kezdenek differenciálódni (Allen 1904), és ettől kezdve a magzatok ivarmirigyeinek tesztoszteron szintje több tízszerese lesz a nőstényekének (Veysiere, Berger et al. 1976). Fejlődésük során mindkét nem vesz fel tesztoszteront. Ennek a hormonnak a szintje a hímekben a

magzati fejlődés során, a 20-21. napon éri el a maximumot (Ivanova 1978; Ivanova 1981).

Első vizsgálatunkban arra a kérdésre kerestük a választ, hogy nyulak esetében a méhen belüli pozíciónak van-e hatása a nemeken belül az ivari fejlődésükre, pontosabban a hím szomszédok befolyásolják-e – akár születéskor, akár felnőtt korban – egy egyed morfológiáját és viselkedését. Korábbi, más fajokon végzett vizsgálatok alapján azt vártuk, hogy mind születéskor, mind felnőtt korban különbséget találunk az állatok AGD-jében, továbbá a felnőttkori álljelölési tesztekben, a méhen belüli szomszédságuk függvényében.

3.1.2. Anyag és Módszer

Az állatok tartása és a vizsgálat helyszíne az általános anyag és módszer fejezetben leírtakkal megegyeztet. A kísérletben Csincilla fajtájú házinyúl nőtényeket (N=14) és ezek utódait használtuk.

A méhen belüli sorrend legkönnyebben a születési sorrendből állapítható meg. Azonban a két méhszarvval rendelkező emlősök esetében az utódok random bújnak ki a két oldalról, így születéskor nem lehetséges az eredeti méhen belüli pozíciójukat meghatározni. Az egyik megoldás erre a problémára a sokak által használt császármetszés, azonban ez igen erősen befolyásolja az anya-utód kapcsolatot. A másik, az egyik oldali méhszarv és petefészek vemhesség előtti eltávolítása, vagyis unilaterális ovariectomizálás (ULO). Korábbi vizsgálatokból ismert, hogy az unilaterális ovariectomizálás számottevően nem befolyásolja az ovulációt, a beágyazódó embriók számát vagy a magzati túlélést (Blasco, Argente et al. 1994). Mivel a nyulak is kétszarvú méhvel rendelkeznek, így a kísérletben résztvevő anyákon egyik oldali méhszarv és petefészek eltávolítást végeztünk, hogy a születési sorrendből rekonstruálható legyen a kisnyulak méhen belüli sorrendje. A műtétet Dr. Jakab László állatorvos végezte. A beavatkozásokhoz az állatokat altattuk (ketamin (50 mg/kg) * xilazil (5 mg/kg). A nőtények egyik felénél a jobb, másik felénél a bal oldali méhszarvat és a hozzá tartozó petefészeket távolítottuk el. A vizsgálatban csak olyan anyákat használtunk, melyek már ellettek a műtét előtt. A műtétet követő 10. napon kiszedtük a varratokat majd egy újabb hét elteltével ismét bepározattuk a nőtényeket.

A műtét nem befolyásolta a vemhesülési sikert, 14 anyából csak egyet nem tudtunk ismételtlen beporoztatni.

A vemhesség 30. napján 17 óra után intravénásan beadott oxitocinnal (10 NE) indítottuk el az ellést. A kicsiket a születésnek megfelelő sorrendben számoztuk és jelöltük (fülük belső felén különböző színű alkoholos filctollal), majd sztereomikroszkóp segítségével meghatároztuk a nemüket. A méhen belüli pozíció (IUP) jellemzésére 4 csoportot hoztunk létre, a méhen belüli szomszédok nemétől és számától függően:

1. Hímek,
2. 2M-es nőtények – azok, akiknek a méhen belül két hím szomszédjuk volt,
3. 1M-es nőtények – azok, akiknek a méhen belül egy hím és egy nőtény szomszédjuk volt,
4. 0M-es nőtények – azok, akiknek nem volt hím szomszédjuk méhen belül.

Lemértük a súlyukat (tized gramm pontosságot biztosító digitális mérlegen) és a gátméretüket (század mm pontosságú digitális tolómérővel, sztereomikroszkóp alatt), majd visszahelyeztük őket a fészekbe. A következő 28 napon minden reggel 8-9 óra között beengedtük az anyát szoptatni. A gátmérést megismételtük elválástáskor (28. nap), 60, 150 és 180 napos korukban is.

Az állatok 6 hónapos korában megmértük a spontán álljelölési aktivitásukat. A teszt során Hudson és mtsai. (1990) leírását követtük. A teszt során a nyulakat egy 1 méter átmérőjű kör alakú arénába helyeztük, mely műanyag hálóval volt körbekerítve. 10 perces beszoktatási idő után egy szagjelektől mentes téglát helyeztünk az aréna közepére majd további 10 percig figyeltük az állat viselkedését Mért változóink a téglára és az arénában egyéb helyre tett jelölések száma és a bárhova tett hetedik jelölésig eltelt idő voltak. A nőtények receptív állapota befolyásolja a spontán álljelölési aktivitásukat, így a vizsgálatot egy hónapon belül 4 alkalommal, hét napos különbségekkel megismételtük, minden alkalommal délelőtt 9 és 12 óra közt (Dombay, Bilkó et al. 1997). Ezzel a többszöri méréssel küszöböltük ki, hogy az eltérő receptív állapotból adódó különbségek a méhen belüli pozíció hatását elfedjék. Az eredmények értékelésekor a négy teszt eredményének átlagát használtuk fel.



3.1. Kép: Felnőtt nyúl álljelölés tesztje az arénában. Az álljelölő viselkedés során a nyúl állmirigy szekrétumát kiálló tereptárgyak felszínéhez dörzsöli.

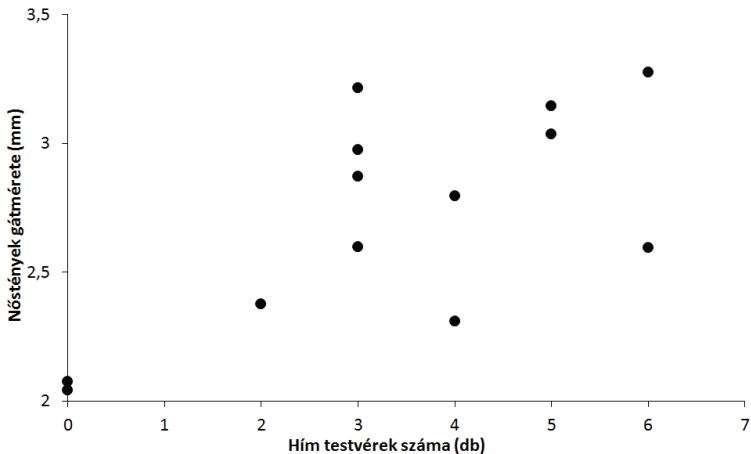
3.1.2.1. Statisztikai módszerek

A műtét előtt és után született almok méretét páros t-tesztel hasonlítottuk össze. A gátméret és a spontán álljelölési aktivitás mérése során egy almon belül az azonos méhen belüli pozíciójú kisnyulak adatait átlagoltuk és egy adatként használtuk. Mivel az egy alomból származó, de különböző méhen belüli pozíciójú nyulak adatai nem függetlenek egymástól, ezért kevert lineáris modellt (Mixed-Effects GLM) használtunk, melyben az alom száma, mint random faktor szerepelt. A csoportokat Tukey-Kramer post-hoc teszttel hasonlítottuk össze. A változók kapcsolatát Spearman-féle rangkorrelációval analizáltuk.

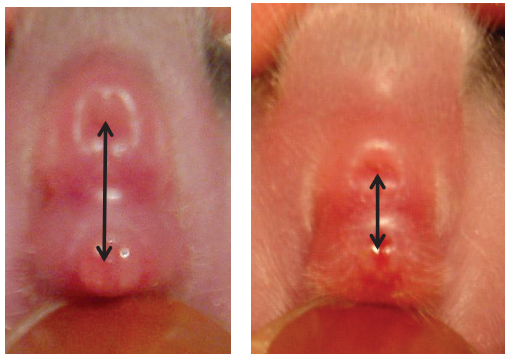
3.1.3. Eredmények

A műtét előtt és után született almok méretét és súlyát páros t-tesztel hasonlítottuk össze, hogy megtudjuk, volt-e a műtétnek ezekre hatása. Sem az almok méretére (páros t-teszt: $t(12) = 0,79$; $p = 0,45$), sem az almok súlyára nem volt hatással (páros t-teszt: $t(12) = 1,24$; $p = 0,23$) az egyik méhszarv és petefészek eltávolítása, így feltételezhető, hogy az más módon sem befolyásolta a kisnyulak méhén belüli fejlődését.

Egy alom ivararánya befolyásolhatja annak a valószínűségét, hogy egy nőténynek van-e közvetlen hím szomszédja a méhén belül. Ebből adódóan összevetve a nőtény utódok átlagos AGD méretét az almaik ivararányával (Spearman-féle rangkorreláció: $r = 0,59$; $N = 13$; $p = 0,03$) vagy a hím testvéreik számával pozitív korrelációt találtunk (Spearman-féle rangkorreláció: $r = 0,57$; $N = 13$; $p = 0,04$) (Ábra 3.1.3.1.).

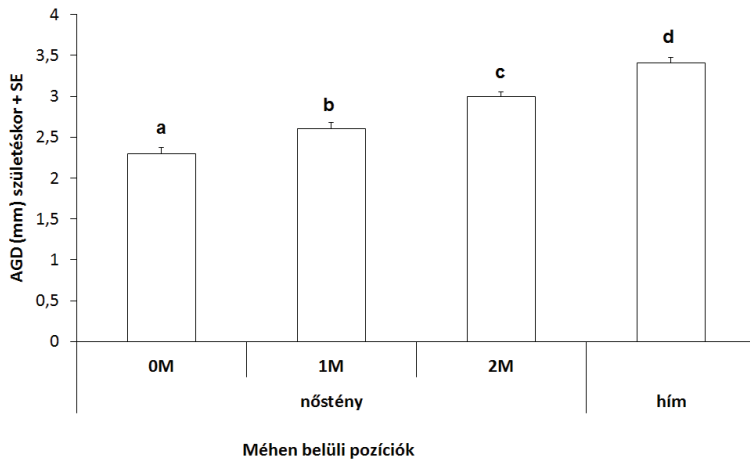


3.1.3.1. Ábra. Születéskor az egy alomban található nőtények átlagos AGD méretét ($N = 13$ alom) befolyásolja az alomban található hímek száma. Az átlagos AGD kisebb, ha az alomban kevesebb a hímek száma (így annak a valószínűsége is lecsökken, hogy hím szomszédja legyen). Megjegyzendő, hogy az ábrán látható korrelációt nagymértékben befolyásolja két, csak nőtényekből álló alom adata.



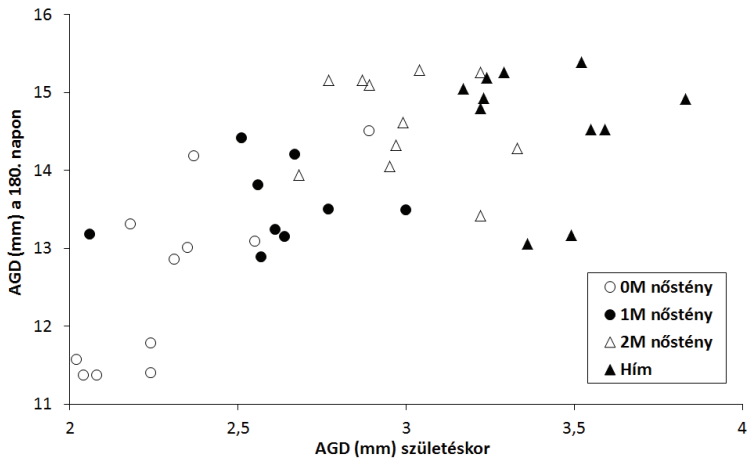
Kép: Hím (balra) és nőstény (jobbra) újszülött kisnyúl gátmérete. A hím és nőstény kisnyulak közt már születéskor felfedezhető a gátméretbeli különbség.

A továbbiakban csak annak a 9 alomnak az adatait használtuk fel, melyekben mind a 4 IUP kategóriás utód megtalálható volt. A 4 csoport születési súlyát összevetve, nem találtunk közöttük különbséget (Kevert lineáris modell: $F(3;26) = 1,59$; $p = 0,21$). A kisnyulak születési súlya és születéskori AGD mérete közt szintén nem találtunk kapcsolatot (Spearman rang korreláció: $r = -0,03$; $n = 42$; $p = 0,83$), így az AGD súllyal való normalizálása nem tűnt szükségesnek. A továbbiakban a 4 csoport születéskori AGD méretét hasonlítottuk össze. Ezen változó tekintetében szignifikáns különbség található a 4 csoport közt (Kevert lineáris modell: $F(3;26) = 66,07$; $p < 0,0001$). A post-hoc teszt eredménye szerint a hímeknek nagyobb az AGD-je mint a 3 másik nőstény csoportnak. Azonban az IUP befolyásolja a 3 nőstény csoport AGD méretét is. Minél több hím szomszédval rendelkezik egy nőstény kisnyúl a méhen belül, annál nagyobb lesz az AGD-je születéskor (Ábra 3.1.3.2.).



3.1.3.2. Ábra. A nem és a méhén belüli pozíció (IUP) hatása a gátméretre (AGD) újszülött kismacskánál. Minél több hím szomszéddal rendelkezik a méhén belül egy nőstény kismacskánál, annál nagyobb lesz az AGD-je születéskor. Az oszlopok feletti betűk a Tukey-Kramer post-hoc teszttel kapott statisztikai különbségeket mutatják.

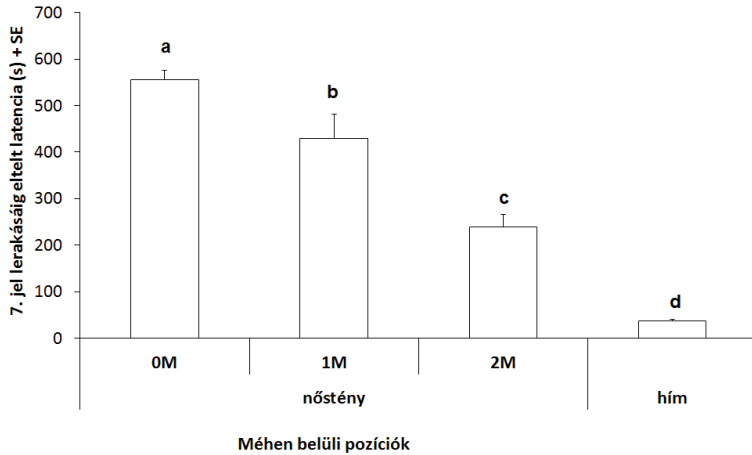
Az állatokat felneveltük, majd fél éves korukban ismét lemértük a gátméretüket. A születéskor és 180 naponan mért AGD-k között erős pozitív korreláció található (Spearman rang korreláció: $r = 0,67$; $n = 42$; $p < 0,0001$), ebből adódóan egy állat születéskori AGD-jéből megjósolható a felnőttkori AGD-je. (Ábra 3.1.3.3.).



3.1.3.3. Ábra. A születéskori (1. nap) és felnőttkori (180. nap) AGD közti kapcsolat ($n=42$).

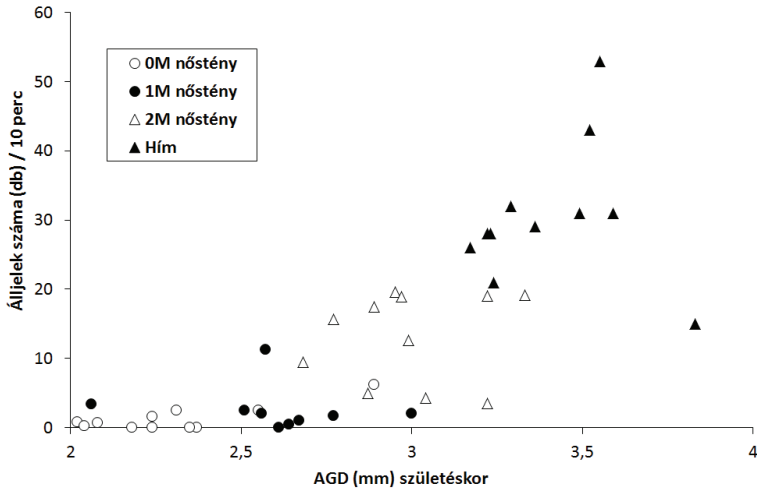
A születéskori AGD-ből megjósolható a felnőttkori AGD, főleg a nőtények esetében. A különböző alakú adatpontok a különböző IUP kategóriákat jelölik.

A spontán álljelölési adatok elemzése alapján szignifikáns különbség mutatható ki a négy csoport között, a lerakott jelek számában (Kevert lineáris modell: $F(3;26) = 40,28$; $p < 0,0001$) és a 7. jel lerakásáig eltelt időben (Kevert lineáris modell: $F(3;26) = 80,76$; $p < 0,0001$) (Ábra 3.1.3.4.). A post-hoc teszt eredménye azt mutatja, hogy a hímek gyorsabban jelölnek, mint a nőtények. A nőtények közül pedig a 2M-esek gyorsabban jelölnek, mint a 0M-esek, és az 1M-esek a másik két csoport között helyezkednek el a jelölés aktivitásban.



3.1.3.4. Ábra. Ismert méhen belüli pozíciójú felnőtt nyulak spontán álljelölési aktivitása. A méhben hím szomszéddal rendelkező nőstény nyulak gyorsabban jelölnek, mint a méhben hím szomszéddal nem rendelkező testvéreik, de lassabban, mint a hímek. Az oszlopok feletti betűk a Tukey post-hoc teszttel kapott statisztikai különbségeket mutatják.

A születés kori AGD és a felnőttkori álljelölés között található pozitív összefüggés (Spearman rang korreláció: $r = 0,84$; $n = 42$; $p < 0,0001$) szintén a méhen belüli pozíció hosszú távú hatását mutatja (ábra 3.1.3.5.).



3.1.3.5. Ábra. A születéskori gátméret és a felnőttkori álljelölési aktivitás kapcsolata ($n = 42$). Általában a nőtények kevesebbet jelölnek, mint a hímek, de a nőtények közül a 2M-esek jelölési aktivitása áll a legközelebb a hímekhez. A különböző alakú adatpontokat a különböző IUP kategóriákat jelölik.

3.1.4. Diskusszió

A fenti vizsgálatban az egyik méhszarv és a hozzá tartozó petefészkek eltávolítása sem az almok méretére, sem az almok súlyára nem volt hatással. Korábbi vizsgálatokban azt találták, hogy az unilaterálisan ovariectomizált anyák alommérete enyhén elmaradt az intakt anyákéhoz képest (Blasco, Argente et al. 1994; Argente, Sanchez et al. 1996), de ezekben a vizsgálatokban szűz nőtényeket használtak és nem ugyanazon anyák műtét előtt és utáni almait vizsgálták. Az unilaterális ovariectomizáció segítségével a születési sorrendből megállapítható a kisnyulak méhen belüli pozíciója, és ez által vizsgálható, hogy a méhen belüli szomszédság milyen befolyással van a morfológiára és viselkedésre.

Azok a nőtény nyulak, melyek a méhben 2 hím között fejlődnek nagyobb gátmérettel rendelkeznek, mint azok, amelyeknek nincs hím szomszédjuk. Ezek az

eredmények egybevágóan korábban, rágcslókon végzett vizsgálatok eredményeivel (Gandelman, vom Saal et al. 1977; Clemens, Gladue et al. 1978; McDermott, Gandelman et al. 1978; vom Saal and Bronson 1978). Vizsgálatunk továbbá igazolta, hogy nyulak esetében a felnőttkori AGD megjósolható a születés kori AGD-ből; összevetve az egyedek születés kori és felnőttkori AGD-jét, pozitív korrelációt kaptunk (lásd 3.1.3.3. ábra).

Eredményeink szerint az egy alomban található nőtény kisnyulak átlagos AGD méretét befolyásolja az alom ivararánya. Minél több a hím az alomban, annál nagyobb a nőtények átlagos AGD mérete. Erre a kapcsolatra két magyarázat lehetséges. Az egyik, hogy az alomban található összes hím hatással van az összes nőtényre, vagy legalábbis nem csak a közvetlen szomszédjaikra hatnak (kaudális hím jelenség). A másik magyarázat, hogy minél inkább a hímek felé tolódik el az ivararány, annál nagyobb a valószínűsége, hogy egy nőtény magzatnak 2 hím szomszédja lesz, (Clark, Karpiuk et al. 1993) és ez esetben a 2M-es nőtények száma nagyobb. Az általunk gyűjtött adatokkal a második magyarázatot igazoltuk. Kiválasztottunk egy IUP csoportot – esetünkben az 1M-eseket – és megvizsgáltuk, hogy hogyan függ össze ezeknek az állatoknak az AGD-je és azoknak az alomnak az ivararánya melyekből származnak. Ha az összes hím által termelt tesztoszteron hatással lenne ezekre a nőtényekre, akkor pozitív korrelációt kellett volna kapnunk, de nem találtunk ilyen összefüggést ($r = 0,21$; $n = 9$; $p = 0,62$).

Számos korábbi tanulmányban leírták már az IUP hosszú távú hatásait is (lásd: bevezető). Mi nőtény nyulak esetében is megtaláltuk ezeket a felnőtt korban is megjelenő különbségeket. A 2M-es nőtények többet és gyorsabban álljelöltek, mint a 0M-es nőtények. Az egyik magyarázat a 2M-es nőtények megemelkedett álljelölés aktivitására az, hogy mivel őket születésük előtt több tesztoszteron érte, ez egyfajta maszkulinizáció és mint tipikus hím viselkedésforma alakult ki. A másik magyarázat, hogy mivel egy 0M-es nőtény sokkal vonzóbb lehet egy hím számára (vom Saal 1989; Drickamer, Robinson et al. 2001), talán a 2M-es nőtények ezt kompenzálják a több jel lerakásával.

3.2. Vizsgálat:

Méhen belüli sorrend hatása a születési súlyokra házinyúlnál

kézirat

3.2.1. Bevezető

Az egyszerre többet ellő emlősök esetében az almon belül felfedezhető a születési súlyok közti egyedi különbség. A nagyobb születési súllyal világra jövő egyedeknek jobb a túlélési esélyeik, míg a kisebb egyedek kisebb valószínűséggel érik meg a felnőtt kort (Rödel, Bautista et al. 2008; Muciño, Bautista et al. 2009). Az egyedek közti születési súly különbség összefüggésben áll az utódok anyaméhben elfoglalt helyzetével is. Patkányoknál a legnehezebb magzatok a méh közepén helyezkednek el, és a születendő utódok súlya csökkenést mutat a petefészek és méhszáj irányába haladva (Barr M. Jr, Jensch et al. 1969). Tengerimalacoknál pontosan ennek ellenkezőjét írták le; a kisebb utódok helyezkednek el középen (Ibsen 1928). Sertések és egerek esetében pedig azt találták, hogy a legnehezebb magzatok a petefészek felőli oldalon vannak, és súlyuk folyamatosan csökken a méhszáj felé haladva (McLaren 1965; Wise, Roberts et al. 1997).

Nyulak esetében is hasonló jelenség figyelhető meg: az utolsó pozícióban (a petefészeknél) lévők nehezebbek, mint az első pozíciókban (a méhszájnal) lévők és a közben lévő utódoknak a súlya köztes (Rosahn and Greene 1936). Későbbi vizsgálatok pontosították ezeket az eredményeket, Pálos és mtsai. (1996) leírták Új-Zélandi fehér nyulakon, hogy a méhszarvban a méhnyaktól a második pozícióban lévő magzatok a legkönnyebbek és a petefészekhez legközelebb esők a legnehezebbek. Ismert továbbá, hogy az almokban a magzatok számának növekedésével csökken az egyedek súlya (Lebas 1982).

Az előző vizsgálat során a születési sorrendből egyértelműen megállapítható volt a kisnyulak méhen belüli elhelyezkedési sorrendje, így könnyen megvizsgálhattuk, hogy vajon a Csincilla fajtájú házinyulak esetében is van-e ilyen differencia a súlyokban a méhen belüli sorrend függvényében. Ennek ismerete számunkra azért fontos, mert a

születési súly számottevően befolyásolhat más morfológiai változókat, például az AGD-t.

3.2.2. Anyag és Módszer

Az előző vizsgálat során a 13 unilaterálisan ovariectomizált anyától született utódok adataival tudtunk dolgozni. Mivel feljegyeztük az összes kismacskák születési súlyát (g), az összes adat rendelkezésünkre állt az elemzéshez.

3.2.2.1. Statisztikai elemzések

Minden alom első, második, utolsó előtti és utolsó egyedeinek születési súlyát átlagoltuk. A középső egyedeknek is a súlyát először almon belül, majd almonként átlagoltuk. Az így kapott adatokat ismételt méréses ANOVA-val analizáltuk és a csoportokat Tukey-Kramer post-hoc teszttel hasonlítottuk össze.

3.2.3. Eredmények

A méhen belüli sorrend meghatározza egy utód születési súlyát: a legnagyobbak helyezkednek el a petefészekhez legközelebb, a legkisebbek a méhszájtól a második pozícióban vannak (ismételt méréses ANOVA: $F(4;48) = 4,67$; $p = 0,03$).

3.2.4. *Diszkusszió*

Vizsgálatunkban csincilla fajtájú házinyúlón is sikerült kimutatni a méhen belüli pozíció és a testsúly összefüggését. Eredményünk alátámasztja a korábbi megfigyeléseket, melyek szerint a méhben a méhszájtól a második pozícióban lévő magzatok a legkisebbek és a petefészekhez legközelebb elhelyezkedők a legnagyobbak.

A jelenség magyarázatára a korai 30-as évektől keresik a választ és időközben több hipotézis is született. Az első szerint az első és utolsó pozícióban lévő utódoknak több helyük van a növekedésre, mivel azokat nem fogják közre társaik (Dziuk 1968; Weibel and Dziuk 1974). Itt azonban megjegyzendő, hogy az első utód méretét valaminek limitálni kell, hiszen ellésnél probléma adódhat, vagy az anya könnyen sérülhet, ha egy átlagosnál nagyobb utódot hoz elsőként a világra.

A pozíció hatás második magyarázata szerint nyulaknál a petefészek felé haladva nemcsak a magzatok, hanem azok placentáinak súlya és ezzel együtt vérellátásuk is növekszik. A legjobb vérellátással a petefészek melletti utódok rendelkeznek (Rosahn and Greene 1936; Bruce and Abdul-Karim 1973). A jobb vérellátás jobb oxigén ellátást és több tápanyagot jelent a fejlődő utódnak, s ezek segítségével gyorsabban fejlődhet. Ezt a hipotézist támasztják alá azok a vizsgálatok, melyekben azt találták, hogy az abortusz esélye nagyobb, illetve a rosszul fejlődő egyedek kétszer gyakrabban fordulnak elő a méhnek a méhszájhoz közel eső részén, mint a petefészek felőli oldalon, mivel a magzatok vérellátása csökken az előbbi irányába (Duncan 1969; Barr M. Jr, Jensch et al. 1970). Továbbá a petefészekhez közel eső embriók nemcsak a méh, hanem a petefészek artériájából is kaphatnak vérellátást (McLaren 1965).

A harmadik hipotézis a pozíció effektus magyarázatára az, hogy a petefészek közelében elhelyezkedő magzat és a hozzá tartozó placenta idősebb, mint a méhszájhoz közelebb levő, így súlya is nagyobb. Ennek alapja az lehet, hogy a peték érése, ovulációja és megtermékenyülésük különböző időpontban történik. Továbbá az első megtermékenyített petesejt a petefészekhez közel, a második e mellé, és így tovább, majd az utolsó a méhszájhoz közel ágyazódik be. A nyulak esetében azonban a peték érésére és kiszabadulása a petefészekből egyszerre történik, mivel indukált ovulátorok, így párzás hatására történik az ovuláció. A peték petefészekből való kiszabadulásában, így megtermékenyülésükben és beágyazódásukban azonban lehetnek időbeli eltérések (Walton and Hammond 1928).

Bár jelen vizsgálatunk nem tárta fel, hogy milyen mechanizmus révén hat a méhen belüli sorrend a súlyra, az azonban hatással lehet a szomszédok hormonhatásának elemzésére is. Ha ugyanis a testméret a méhszáj környékén kisebb, mint a méhszarv másik végén fejlődő magzatoknál, akkor az az AGD mérésben is extra varianciaként jelentkezhet. Ezt a jövőbeli vizsgálatok tervezésekor figyelembe fogjuk venni.

3.3. Vizsgálat:

Születés előtti tesztoszteron kezelés hatása a morfológiára és a viselkedésre házinyulaknál

Megjelent:

Physiology & Behavior, 2010, Volume 101, Issue 4, Pages 422–427

Bánszegi, O., Altbäcker, V. Dúcs, A. & Bilkó Á.

Testosterone treatment of pregnant rabbits affects sexual development of their daughters

3.3.1. Bevezető

A születés előtti maszkulinizációs folyamatokban a tesztoszteronnak van az egyik legerősebb organizációs hatása. A központi idegrendszer szexuális differenciációjában igen fontos szerepet játszik, és hatása sok esetben visszafordíthatatlan (Mann and Svare, 1983). Lehetséges módszer a tesztoszteron hatásának vizsgálatára, ha magának a hormonnak a mennyiségét kontrollálják kísérletesen, azaz meghatározott mennyiségű tesztoszteronnal vagy inhibitorral kezelik a vemhes anyákat és ezáltal a születendő utódokat. Rágcsálókön végzett vizsgálatok kimutatták, hogy míg a hím utódok születés előtti anti-androgén kezelése demaszkulinizálja (Clemens, Gladue et al. 1978; vom Saal 1978; Hotchkiss, Ostby et al. 2002), addig a nőstény utódok születés előtti androgén kezelése maszkulinizálja mind a morfológiájukat, mind a viselkedésüket (Perakis and Stylianopoulou 1986).

Egerek esetében vemhes anyáknak adott tesztoszteron injekció a nőstény utódoknál nagyobb születés kori AGD-t (Gandelman, Simon et al. 1979), valamint felnőtt korban agresszívabb viselkedést okozott (Gandelman, Rosenthal et al. 1980). Patkányok esetében hasonló eredményeket kaptak születés előtti tesztoszteron kezelés hatására: a nőstény utódoknál nagyobb AGD-t (Hotchkiss, Lambright et al. 2007), késői ivaréret és csökkent szexuális viselkedést (Rhees, Kirk et al. 1997), de nagyobb aktivitást tapasztaltak (Kršková and Talarovičová 2005).

Jelen vizsgálatunkban mesterségesen próbáltuk manipulálni a nőstény nyulak szexuális differenciálódását azzal, hogy tesztoszteronnal kezeltük a vemhes anyákat. A

korábbi eredmények alapján a nőtény utódok különböző mértékű maszkulizálódását vártuk az adagolt tesztoszteron mennyiségének függvényében, mind születéskor, mind felnőttkorban (Anderson, Zarrow et al. 1970). A születés előtt tesztoszteronnal kezelt nőtényeknél a 2.1. fejezetben leírt eredményekhez hasonló változásokat vártunk a morfológiában és a viselkedésben.

3.3.2. Anyag és módszer

Az állatok tartási körülményei az általános anyag és módszer fejezetben leírtakkal megegyezett. A kísérletben ivarérett, legalább egyszor ellett nőtény nyulak vettek részt (N=37). Az anyákat bepároztattuk, majd az újszülött kisnyulakon lemértük változóinkat, melyek a teljes alomméret (db), a születési súly (g), a születéskori AGD (mm) és a kisnyulak neme voltak. A súly és AGD méréseket az előző fejezetben leírt módon és eszközökkel végeztük. A kisnyulak jelölése és nevelése is az előző fejezetben leírtakhoz hasonlóan történt.

Az anyákat előző almaik elválasztása után újra bepároztattuk, majd véletlenszerűen 4 csoportba osztottuk. Az anyák súlya a négy csoport között hasonló volt ($3300 \text{ g} \pm 375 \text{ g}$). Az első csoportba a nem kezelt (nem injekciózott) állatok kerültek (NIC kontroll; $n = 8$), a második csoportban az állatok csak a hordozó anyagot (szezámolaj) kapták (OIL kontroll; $n = 9$), a harmadik csoportban az anyák $3 \mu\text{g}$ tesztoszteron-propionátot (TP) kaptak (Sigma Aldrich), $0,05 \text{ ml}$ szezámolajban ($3 \mu\text{g}$ TP csoport; $n = 10$) és a negyedik csoportban 3 mg TP-t kaptak (3 mg TP csoport; $n = 10$). Az injekciózott csoportokat 7-szer kezeltük a vemhességi idejük 19-25 napján, reggel 9 óra és 10 óra közt és az injekciókat bőr alá adtuk be. A TP mennyiségének megállapításakor az volt a cél, hogy lefedjük a fiziológiai mennyiség alsó és felső extrém határát korábbi publikációk alapján (von Holst 1998; Briganti, Seta et al. 2003; González-Mariscal, Jiménez et al. 2003). Korábbi vizsgálatokban megszokott eljárás volt, hogy kontroll csoportként egy hatóanyaggal nem, csak a hordozóval kezelt csoportot használtak. Mi fontosnak tartottuk emellett egy olyan kontroll csoport bevezetését is, melyet egyáltalán nem ért semmilyen hatás.

Az ebből a vemhességből született utódok ismételen lemértük a korábban leírt változókat. Az alomméret hatás kiküszöbölése céljából az anyák utódainak adatait az almokban nemenként átlagoltuk, az analízisbe ezek az adatok kerültek.

Egy újszülött állat AGD-je függhet a születési súlyától, melyet az alomméret és az anya korábbi elléseinek száma is befolyásolhat (Blasco, Argente et al. 1994), így az anyák két egymást követő alomban született utódok változóinak (AGD és súly) különbségét is vizsgáltuk.

Gyakorlati okokból csak a második alomban született nyulakat tartottuk meg, neveltük fel és használtuk a felnőttkori tesztekben. Az állatok 180 napos korában ismét megmértük a súlyukat és az AGD-jüket. Annak érdekében, hogy kizárjuk felnőttkorban a testsúly hatását, az AGD-t normalizáltuk a súllyal ($NAGD = AGD \text{ (g)} / \text{súly (mm)} * 100$). Továbbá megmértük az állatok állmirigyét digitális tolmérő segítségével, mivel ennek méretét szintén befolyásolja az állat neme és szexuális aktivitása (González-Mariscal, Melo et al. 1990).

A 180. naptól kezdve az állatok spontán álljelölését is vizsgáltuk. Minden állatot egy hónapon át, hetente, összesen 4 alkalommal teszteltünk, mivel a spontán álljelölési aktivitás mértéke időben fluktuál (Dombay, Bilkó et al. 1997). Az egy állattól származó értékeket átlagoltuk, hogy ezzel is kizárjuk az esetleges aktuális hormonális különbségekből adódó hatásokat (González-Mariscal, Melo et al. 1990). A tesztberendezés, szituáció és változók a korábbi fejezetben leírtakkal megegyeztek.

3.3.2.1. Statisztikai módszerek

Az egy alomba tartozó nőtény utódok adatait átlagoltuk. Az elemzésbe csak a nőtény utódokat vontuk be. Mivel mind az AGD-t, mind a súlyt befolyásolhatja az állatot ért prenatális tesztoszteron mennyisége, ezért az elsődleges hatás eldöntéséhez kovariancia analízist használtunk. Ennek során az AGD volt a függő változónk, a súly pedig a kovariáns (vom Saal 1978; Gallavan, Holson et al. 1999). A csoportokat születéskor és felnőtt korban is egyutas ANOVA-val hasonlítottuk össze és post-hoc tesztként Tukey-Kramer post-hoc tesztet használtunk.

3.3.3. Eredmények

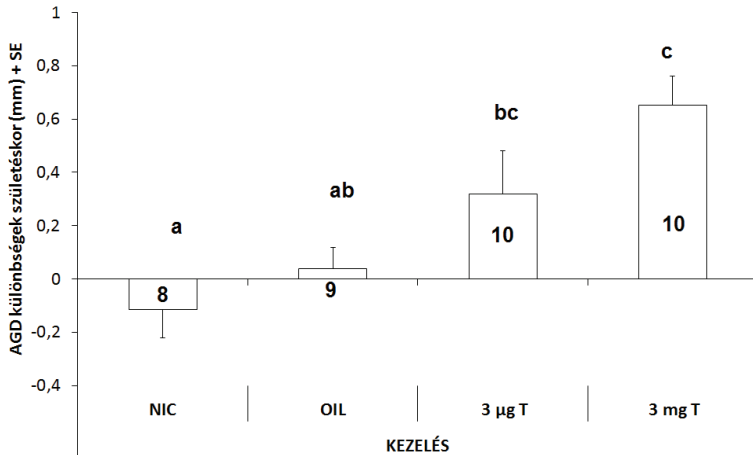
A négy csoportba tartozó anyák kezelés előtti almainál a születéskori adatok összehasonlításakor sem az AGD-ben (egyutas ANOVA: $F(3;33) = 0,52$; $p = 0,67$) sem a súlyokban nem találtunk különbséget ($F(3;33) = 2,57$; $p = 0,07$). A kezelés után született alom azonban különböztek mind AGD-ben ($F(3;33) = 11,11$; $p = 0,0001$), mind súlyban ($F(3;33) = 4,31$; $p = 0,01$) (Táblázat 3.3.3.1.). Az összehasonlítás

kimutatta, hogy a születés előtt 3 mg TP-vel kezelt nőténynek AGD-je és születéskori súlya nagyobb, mint a többi csoport nőtényeinek AGD-je és súlya. Mivel mind az állat AGD-jét és mind a születési súlyát befolyásolhatja a születés előtt öt ért TP mennyisége, ezért kovariancia analízist végeztünk a súlyt használva kovariánsként. Ezzel az analízissel is kimutatható volt a csoportok közti AGD-beli különbség (ANCOVA: $F(3;32) = 5,36$; $p = 0,004$).

Csoportok	Első alom		Második alom	
	AGD	Súly	AGD	Súly
NIC	2,71 ± 0,12	53,78 ± 3,89	2,59 ± 0,10 ^a	50,86 ± 4,20 ^a
SO	2,56 ± 0,06	51,33 ± 3,29	2,60 ± 0,06 ^a	54,46 ± 2,15 ^a
T	2,53 ± 0,10	50,65 ± 3,48	2,85 ± 0,08 ^a	58,10 ± 3,10 ^a
TT	2,58 ± 0,12	62,13 ± 3,00	3,23 ± 0,11 ^b	67,58 ± 4,06 ^b

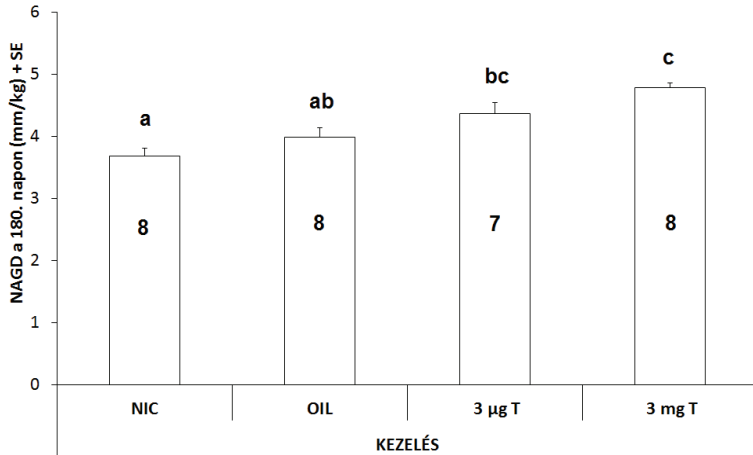
3.3.3.1. Táblázat. Az adatok az egy almomban található nőtény kisnyulak születéskori átlagos (\pm SE) AGD és súly adatai. Az oszlopokban található betűk a statisztikai különbséget mutatják.

Az adatokból látszik (3.3.3.1. Táblázat.), hogy az anyák első almáinak súlya nem egyezik, habár az eltérés nem szignifikáns. Így a még pontosabb elemzés érdekében összehasonlítottuk az anyák első és második almait és azt találtuk, hogy bár a súlyban nem különböznek (egyutas ANOVA: $F(3;33) = 1,06$; $p = 0,38$), de az AGD-ben eltérnek ($F(3;33) = 7,59$; $p = 0,001$) (Ábra 3.3.3.1.). Mindkét TP-vel kezelt csoportban nagyobb lett a születéskori gátméret, mint a nem kezelt csoportban



3.3.3.1. Ábra. Születés kori AGD különbség (átlag + SE) az első és második almok nőtényi utódai közt. Szignifikáns különbség mutatható ki a születés előtt TP-vel kezelt és nem kezelt nyulak AGD-jében. A TP-vel kezelt nőtények gátmérete szignifikánsan nagyobb, mint a nem kezelt állatok AGD-je. Az oszlopokban található számok az elemszámokat, az oszlopok felett található betűk a Tukey-Kramer post-hoc teszttel kapott statisztikai különbséget mutatják.

Felnőtt korban (180. nap) a csoportok között még mindig megmaradt a különbség az AGD tekintetében (egyutas ANOVA: $F(3;27) = 14,85$; $p < 0,0001$). A 3 µg TP-vel kezelt nőtényeknek nagyobb az AGD-je, mint az olajjal kezelt csoportba tartozóknak és nagyobb a nem kezelt csoportba tartozóknál is. Az állatok felnőttkori súlyában nem találtunk különbséget a tesztoszteron kezelés függvényében, azonban a csak szeszámolajjal kezelt csoport nőtényei könnyebbek voltak, mint a kontroll csoport nőtényei (egyutas ANOVA: $F(3;27)=3,82$; $p=0,02$). Kovariancia analízissel a különbség szintén kimutatható a felnőttkori AGD-ben (ANCOVA: $F(3;26) = 17,81$; $p < 0,0001$), mint a születés előtti androgén hatása. A felnőttkori NAGD összehasonlításakor szintén különbséget kaptunk a csoportok közt (egyutas ANOVA: $F(3;27) = 10,21$; $p < 0,001$). A születés előtt 3 mg TP-vel kezelt nőtények NAGD-je nagyobb, mit a T hatásnak ki nem tett csoportoké (Ábra 3.3.3.2.).

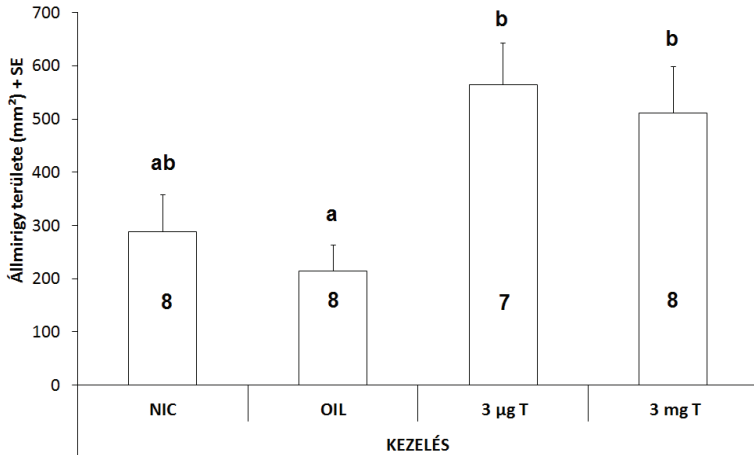


3.3.3.2. *Ábra. A négy csoportba tartozó nőstény utódok felnőtt korában a súllyal normalizált AGD (NAGD) mérete (átlag +SE). A születés előtt TP-vel kezelt csoportoknak nagyobb a normalizált AGD-je mint a nem kezelt csoportban és a 3mg TP-vel kezelt csoportnak nagyobb a normalizált AGD-je mint a hordozóval kezelt csoportnak. Az oszlopokban található számok az elemszámokat, az oszlopok felett található betűk a Tukey-Kramer post-hoc teszttel kapott statisztikai különbséget mutatják.*

A születés előtti androgén kezelés az állmirigy méretét is befolyásolta. A 3 µg és 3 mg TP-vel kezelt nőstényeknek szignifikánsan nagyobb lett az állmirigye, mint a szeszámolajjal kezelt nőstényeké (egyutas ANOVA: $F(3;27) = 4,55$; $p = 0,01$) (Ábra 3.3.3.3.)

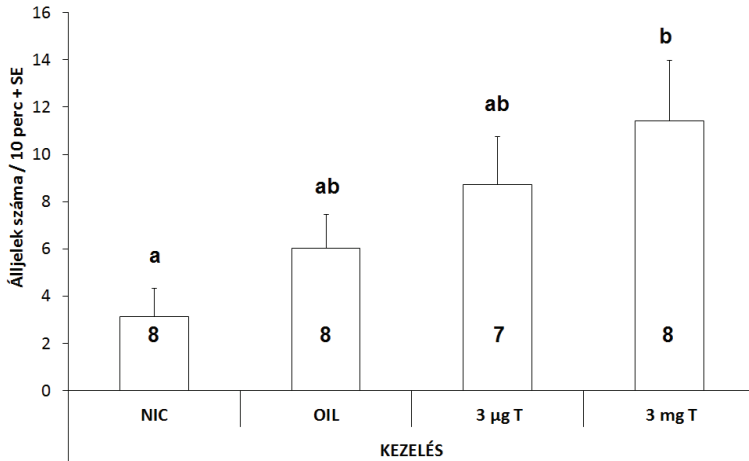


Kép: állmirigy mérése digitális tolómérő segítségével. Az állmirigy területe jól kivethető nyulak esetében, mivel azon a területen szőrzetük láthatóan nedvesebb.



3.3.3.3. *Ábra. A nőtény utódok állmirigy mérete a kezelés függvényében (átlag ±SE). A születés előtt TP-vel kezelt nőtények állmirigy mérete szignifikánsan nagyobb lett a két kontrol csoportéhoz képest. Az oszlopokban található számok az elemszámokat, az oszlopok felett található betűk a Tukey-Kramer post-hoc teszttel kapott statisztikai különbséget mutatják.*

A kezelt és nem kezelt nőtények spontán álljelölési aktivitásában szintén találtunk szignifikáns különbséget (egyutas ANOVA: $F(3;27) = 2,94$; $p = 0,05$) (Ábra 3.3.3.4.). A legnagyobb aktivitást a 3 mg TP-vel kezelt nőtények mutatták, míg a 3 µg TP-vel és olajjal kezelt csoport nőtényei fokozatosan csökkenő aktivitást mutattak.



3.3.3.4. Ábra. A nőstény utódok spontán álljelölési aktivitása a különböző csoportokban (átlag + SE). A születés előtt 3mg tesztoszteron-propionáttal kezelt csoport nőstényei többet jelöltek 10 perc alatt, mint a többi csoport nőstényei. Az oszlopokban található számok az elemszámokat, az oszlopok felett található betűk a Tukey-Kramer post-hoc teszttel kapott statisztikai különbséget mutatják.

3.3.4. *Diszkusszió*

Jelen vizsgálat szerint a prenatális tesztoszteron kezelés nyulak esetében is hatással volt a nőstény utódok születés- és felnőttkori morfológiájára és viselkedésbeli sajátosságaira. Tesztoszteron adagolása vemhes anyáknak, dózis-függően befolyásolta az utódok születéskori AGD méretét. Ebben a vizsgálatban kapott eredményeink egybevágnak korábbi, rágcsálókön végzett tanulmányok eredményeivel, azonban megjegyzendő, hogy azokban a tanulmányokban igen nagy mennyiségű tesztoszteronnal kezelték az állatokat (Gandelman, Simon et al. 1979; Mann and Svare 1983; Juárez, Corsi-Cabrera et al. 1995; Rhees, Kirk et al. 1997; Wolf, Hotchkiss et al. 2002; Hotchkiss, Lambright et al. 2007). A tesztoszteron mennyiségének meghatározásánál törekedtünk arra, hogy az egyik csoportban közel fiziológias

mennyiséggel kezeljük az állatokat. Eredményeink azt mutatják, hogy még ebben az esetben is a születés előtti tesztoszteron kezelés hatására megnövekedett a gátméret.

Bár a születés előtt 3 mg TP-vel kezelt utódok súlya nagyobb volt, mint a többi csoport nőstényeinek súlya, az anyákon végzett önkontroll vizsgálat cáfolta, hogy ez a TP kezelésnek lenne köszönhető. Ennek valószínűsíthető oka, hogy a nőstények közt vannak kevesebbet és többet ellő típusok. A kisebb almokban az egyedek átlagos súlya nagyobb (Lebas 1982; Pálos, Szendrő et al. 1996). Valószínűsíthető, hogy a 3 mg TP-vel kezelt csoportba több olyan nőstény is került, mely az átlagnál kevesebbet ellik. Ezt a lehetőséget az anyák első és második almainak összehasonlításával vizsgáltuk. Sem az alomméretben vagy alomsúlyban, sem a kisnyulak egyedi súlyában nem találtunk különbséget, és ez igazolta feltevésünket. Más kutatók sem találtak eltérést a születési súlyokban a tesztoszteron hatás függvényében (McDermott, Gandelman et al. 1978; vom Saal and Bronson 1978).

A prenatális tesztoszteron kezelés hosszú távú hatásait mind a morfológiában, mind a viselkedésben sikerült igazolnunk. Felnőtt nőstény nyulak gát és állmirigy mérete, valamint spontán álljelölési aktivitása a tesztoszteron kezelés hatására megnövekedett, hasonlóan a korábban más fajokon leírt eredményekhez (Gandelman, vom Saal et al. 1977; Clemens, Gladue et al. 1978; Gandelman, Simon et al. 1979; Wolf, Hotchkiss et al. 2002). Bár a tesztoszteron kezelés nem volt hatással az állatok felnőttkori testsúlyára, a korábbi javaslatokat elfogadva elosztottuk a gátméretet a súllyal, de az eredményen ez nem változtatott. Súlyra történő korrekciót követően a tesztoszteron AGD-re kifejtett hatása még mindig kimutatható (Graham and Gandelman 1986; Vandenbergh and Huggett 1995)

Figyelembe kell venni, hogy az ilyen típusú vizsgálatoknál az anyák egy héten keresztül mindennapos injekciózása tagadhatatlanul stresszt jelent az állat számára. Az anyai stressz befolyásolja a tesztoszteron termelődését az utódokban és ez megzavarja a normális ivari differenciálódás menetét, számos visszafordíthatatlan morfológiai változást és diszfunkcionális viselkedést eredményezve akár a felnőttkori szexuális viselkedésben is (Ward and Weisz 1980; Fleming, Anderson et al. 1986). Az anyát ért stressz eltolhatja a magzati fejlődés alatt bekövetkező tesztoszteron csúcsot, így az nem esik egybe az ivari differenciálódás időpontjával. Stresszelt anyák hím utódai esetében erőteljes feminizációt, a nőstény utódok esetében pedig maszkulinizációt írtak le (Ward

1971; Dahlöf, Hård et al. 1978; Herrenkohl 1979; Kinsley and Svare 1988; Zielinski and Vandenberg 1991; Zielinski, Vandenberg et al. 1991; Williams, Hennessy et al. 1998). Vizsgálatunk eredménye támogatja ezt a megfigyelést, mivel a csak szexámolajjal kezelt nyulak csoportjában enyhe maszkulinizáció látható, mind a morfológiájában, mind a viselkedésben.

A legtöbb változó vizsgálatokor nem találtunk szignifikáns különbséget a kontroll csoport és a szexámolajjal kezelt csoport közt, az egyetlen kivétel a felnőttkori testsúly volt. Feltételezhető, hogy az injekciózás miatt az anyákban kialakuló stressz hatására bekövetkezik egy lassabb testsúlygyarapodás - akár a megnövekedett napi aktivitás következtében - az utódoknál, azonban ezt a tesztoszteronnal kezelt csoportokban az androgén kezelés kompenzálja. Egerek esetében ismert, hogy mindkét nemnél a 2M-eseknek alacsonyabb a napi aktivitási szintjük és nagyobb a testsúlyuk, mint 0M-es testvéreiknek (Perrigo and Bronson 1985; Kinsley, Miele et al. 1986a).

Jelen vizsgálatunk jelentős előrelépés a nyúl egyedfejlődési mechanizmusainak vizsgálatában. Az 1. kísérlet az elemzte, hogy természetes körülmények közt, mikor és hogyan érhet egy embriót extra tesztoszteron. E vizsgálat szerint a születés előtti extra tesztoszteron kezelés hatására a maszkulinizáció ugyanazon jeleket mutatták az állatok (születéskor és felnőtt korban is), mintha a méhen belül hím szomszédai lettek volna, alátámasztva ezzel a méhen belüli hím szomszédok hatását.

3.4. Vizsgálat:

A gátméret, alomméret, ivararány és attraktivitás kapcsolata nőtény nyulaknál

Megjelent:

Physiology & Behavior, 2012, Volume 105, Issue 1, Pages 1226-1230

Bánszegi O., Szenczi P., Dombay K., Bilkó Á. & Altbäcker V

Anogenital distance as a predictor of attractiveness, litter size and sex ratio of rabbit does

3.4.1. Bevezető

Először a szagjelek elhelyezése széles körben elterjed kommunikációs forma (Mykytowycz 1970; Thiessen and Rice 1976; Gosling and Roberts 2001). A jelek többek között információt nyújthatnak az állat neméről, szociális státuszáról, reprodukív fázisáról, territóriumának helyzetéről, sőt, akár az egyedi felismerését is lehetővé teszik (Mykytowycz 1968; Ralls 1971; Johnson 1973; Gosling 1982; Heymann 2006). Néhány fajnál a szagjelölés a proceptivitás egyik formája, vagyis ezzel a viselkedéssel jelzi egy nőtény receptív státuszát a hímek fele (Michael and Keverne 1968; Beach 1976; Johnston 1979; Soares and Diamond 1982).

Nyulak esetében – mivel éjszakai állatról van szó – a kémiai kommunikáció különösen fontos. A szagjelekkel való kommunikációjukat számos bőrmirigy segíti, melyek közül az állmirigy és annak váladéka a legintenzívebben vizsgált. Nyulaknál mindkét nemre jellemző az álljelölési viselkedés, de ugyanakkor szexuális differenciációt is mutat. A hímek többet jelölnek és állmirigyük is nagyobb, mint a nőtényeknek (Mykytowycz 1965; Mykytowycz and Goodrich 1974; Cerbón, Camacho-Arroyo et al. 1996). A nőtények esetében az erős jelölés-aktivitás csak az épp receptív állapotú nőtényekre jellemző (Soares and Diamond 1982; Hudson, González-Mariscal et al. 1990; Beyer, Hoffman et al. 2007). Az ELTE Etológiai tanszékén végzett korábbi és saját munkákból ismert, hogy a nagy AGD-s nőtények – akiket születés előtt extra tesztoszteron hatás ért - nagyobb álljelölő aktivitást mutatnak (Dombay 1997).

A gátméret egy általánosan használt biomarker lett a születés előtti androgén kitétségi vizsgálatokban. Korábbi vizsgálatainkban bebizonyítottuk, hogy ez nyulak esetében is jól használható. A felnőtt nőtények esetében nagy variancia mutatkozik a

gátméretben, mely részben – vagy teljesen – a születés előtti hormonkitettségnél köszönhetően alakul ki. Emlősök esetében, beleértve az embereket is, a születés előtti tesztoszteron hatás befolyásolja a reprodukciós sikert (vom Saal and Moyer 1985; Clark, Karpiuk et al. 1993; Vandenberg and Huggett 1994; Clark and Galef 1995b; Lummaa, Pettay et al. 2007). Csatádi és mtsai. (2007) által tenyésztetben tartott nyulakon végzett korábbi vizsgálatok igazolták, hogy a nagy AGD-s nőtények kisebb almodkat hoznak a világra és ezekben az ivararány a hímedek felé tolódik el.

Fontos megjegyezni, hogy korábbi, hasonló témájú, emlősökön készült vizsgálatok szinte kivétel nélkül laboratóriumi állatokon készültek, így elképzelhető, hogy az anyai AGD és az almodméret kapcsolata a tenyésztés és a mesterséges szelekció révén alakult ki. A mi célunk az volt, hogy megvizsgáljuk, vajon létezik-e ez a jelenség a természetben. Pontosítva, vajon a vadon élő üreginyulaknál is megtalálható ez a gátméretbeli változatosság, és ha igen, összefüggésben van-e az almodmérettel és az almod ivararányával. Ebben a cikkben egy, Dombay Krisztina által az Etológia tanszéken korábban végzett vizsgálat is bevonásra került, melynek eredményét más szempontok szerint újra tárgyaltuk.

3.4.2. Első kísérlet

3.4.2.1. Anyag és módszer

E vizsgálatához 16 felnőtt nőtény és 4 felnőtt hím üreginyulat fogtunk be Paks környékén, Sáfrány Lajos helyi vadászmeister segítségével. Annak érdekében, hogy az állatokat minél kevesebb stressz érje (szállítás, laboratóriumi körülmények), a vadász kertjében helyeztük el őket. Egy fákkal-bokrokkal körbevett árnyas területen egyenként standard nyúlketrecbe kerültek nyúltáppal (Galgavit Rt.) és vízzel ellátva, melyhez egész nap hozzáférhettek. A ketrecben egy kisebb, fából kialakított búvóhely is a rendelkezésükre állt.

Befogáskor lemértük az állatok súlyát (gramm pontossággal) és a gátméretüket (század mm pontosságú digitális tolómérővel). Minden állatot háromszor, egymástól függetlenül mértünk meg és a kapott eredmények átlagával számoltunk később. A párosztatást a befogás utáni második héten kezdtük, melynek során a hímedeket a nőtény ketrecébe tettük és három napig ott hagytuk. A hímedek és nőtények párosítása véletlenszerűen történt. 4 nappal a várható ellés előtt szénát biztosítottunk a

nőstényeknek, hogy abból a ládában fészket építhessenek. Az ellés utáni reggelen meghatároztuk az alomszámot és a kisnyulak nemét, majd lemértük a súlyukat és a gátméretüket. Az alomméret 3-6 egyed közt volt. Hotchkiss & Vandenbergh (2005) javaslatára kiszámoltuk a normalizált AGD-t is. A nőstényeket 2 csoportba osztottuk Drickamer és mtsai.-t (2001) követve: kis AGD-s nőstények (n=8) lettek azok akik AGD mérete a medián alatt és nagy AGD-s nőstények (n=8) lettek azok akik AGD mérete a medián felett helyezkedett el. A nőstények csoportba sorolását nem befolyásolta, hogy AGD-vel vagy normalizált AGD-vel számoltunk.

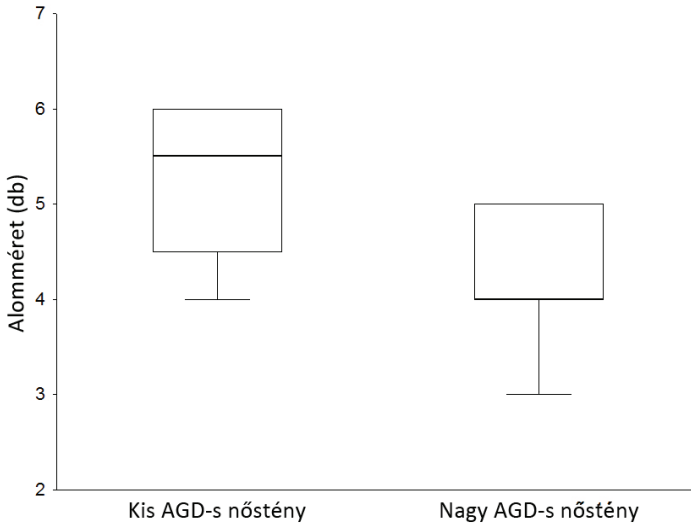
3.4.2.1.1. Statisztikai módszerek

Az adatok normál eloszlását Kolmogorov – Smirnov teszttel teszteltük. A változók kapcsolatát Spearman-féle rangkorrelációval vizsgáltuk. A kis és nagy AGD-s anyák almainak változóit páratlan t-teszttel (Welch-próba) hasonlítottuk össze. Az ivararányt és alomméret adatokat Mann-Whitney U teszttel analizáltuk.

3.4.2.2. Eredmények

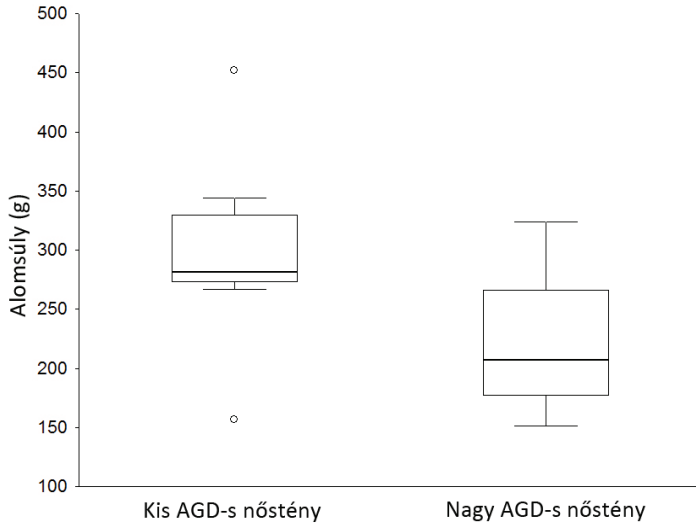
A kis és nagy AGD-s nőstények súlyát összehasonlítva nem találtunk különbséget (páratlan t-teszt: $t(14) = 0,67$; $p = 0,51$), továbbá az állatok súlya és AGD-je közt sem találtunk kapcsolatot (Spearman-féle rangkorreláció: $r = 0,18$; $n = 16$; $p = 0,50$). Ebből adódóan a normalizált AGD használatát az AGD helyett feleslegesnek ítéltük.

Megállapítottuk, hogy egy nőstény AGD-je meghatározza az alom méretét, a nagy AGD-s nőstények szignifikánsan kisebb almokat etlettek (Mann-Whitney U teszt: $U = 13$, $n_1 = 8$, $n_2 = 8$, $p < 0,05$) (Ábra 3.4.2.2.1.).



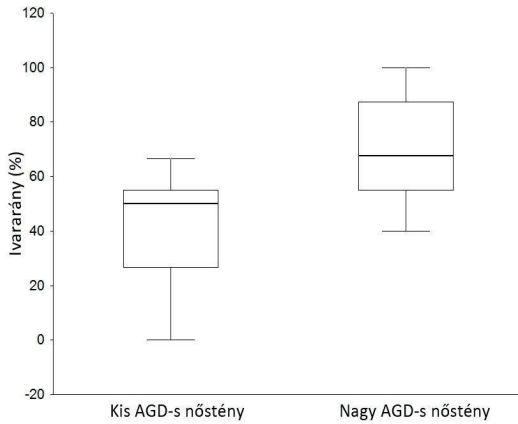
3.4.2.2.1. *Ábra. A kis és nagy AGD-jű anyák alommérete. A kis AGD-s anyák nagyobb almokat hoznak a világra, mint a nagy AGD-sek. A dobozokban a vastag vonal a mediánt, a dobozok a felső és az alsó kvartilist, a dobozból kiinduló vertikális vonalak a maximum és minimum értékeket mutatják.*

A nagy AGD-s anyák almái könnyebbek, mint a kis AGD-s anyák almái (páratlan t-teszt: $t(14) = 2,09$; $p = 0,05$) (Ábra 3.4.2.2.2.). Nem találtunk összefüggést az anya AGD mérete és a kisnyulak egyedi születési súlya közt (páratlan t-teszt: $t(14) = 1,13$; $p = 0,29$). Ezekből következik, hogy az almok súlyában tapasztalt különbséget az alomméret befolyásolta, minthogy ez a két változó pozitívan korrelált egymással (Spearman-féle rangkorreláció: $r = 0,76$; $n = 16$; $p < 0,001$).

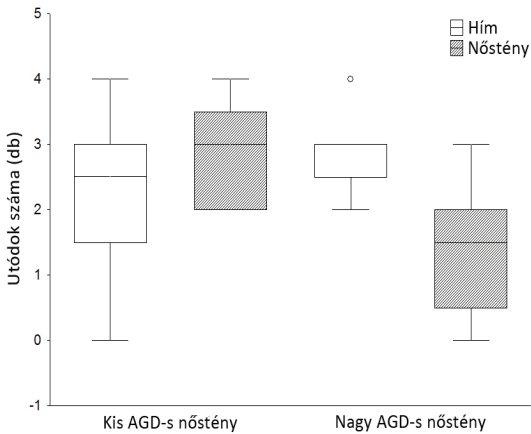


3.4.2.2.2. *Ábra. A kis és nagy AGD-s anyák almainak súlya. A kis AGD-s anyák almai nehezebbek, mint a nagy AGD-s anyák almái. A különbséget az alomméretbeli változás okozza. A dobozokban a vastag vonal a mediánt, a dobozok a felső és az alsó kvartilist, a dobozból kiinduló vertikális vonalak a maximum és minimum értékeket mutatják. A körök az extrém pontokat jelölik.*

Az anyák AGD-je és az almaikban található ivararány kapcsolatának vizsgálatokor megállapítottuk, hogy a nagy AGD-s nőstények almaiban az ivararány a hímek felé tolódott el (Mann–Whitney U teszt: $U = 11,5$, $n_1 = 8$, $n_2 = 8$, $P < 0,05$) (Ábra 3.4.2.2.3a.). A részletesebb elemzés azt mutatja, hogy bár a nagy és kis AGD-s nőstények almaiban a hímek száma megegyezik (Mann–Whitney U teszt: $U = 23$, $n_1 = 8$, $n_2 = 8$, $P = 0,38$), a nagy AGD-s nőstények almaiban a nőstény utódok száma lecsökken. A nőstény utódok száma a kis és nagy AGD-s anyák almaiban szignifikánsan különbözik (Mann–Whitney U teszt: $U = 8,5$, $n_1 = 8$, $n_2 = 8$, $P < 0,01$) (Ábra 3.4.2.2.3b).



3.4.2.2.3.a. *Ábra. A kis és nagy AGD-s anyák almainak ivararánya. Nagy AGD-s nőstények almaiban az ivararány a hímek fele tolódik. A dobozokban a vastag vonal a mediánt, a dobozok a felső és az alsó kvartilist, a dobozból kiinduló vertikális vonalak a maximum és minimum értékeket mutatják.*



3.4.2.2.3.b. *Ábra. A kis és nagy AGD-s anyák almaiban található hím és nőstény utódok száma. A nagy AGD-s nőstények kevesebb nőstényt hoznak a világra, mint a kis AGD-s nőstények. A dobozokban a vastag vonal a mediánt, a dobozok a felső és az alsó kvartilist, a dobozból kiinduló vertikális vonalak a maximum és minimum értékeket mutatják. A kör az extrém pontot jelöli.*

3.4.3. Második kísérlet

Egereken végzett korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a hímek a kis AGD-s nőtények szagát inkább preferálják, mint a nagy AGD-sekét. Továbbá mindkét nem elkerüli az azonos nemű nagy AGD-s egyedtől származó szagokat, mivel ezek az egyedek jellemzően agresszívebbek (Drickamer, Robinson et al. 2001). Második kísérletünkben azt vizsgáltuk, vajon a nőtények közti AGD-beli különbség befolyásolja-e a bak nyulak választását.

3.4.3.1. Anyag és módszer

A kísérletben Csincilla fajtájú házinyúl nőtényeket (N=16) és bakokat (N=8) használtunk. Vizsgálatunkat az ELTE-TTK Etológia Tanszék gödi Biológiai Álomházának tenyészházában végeztük. Az állatokat tartása a korábbi fejezetekben leírtakkal megegyezett.

A hím nyulak álljelölését a korábbi fejezetben leírt tesztberendezésben és időszakban teszteltük. A 10 perces beszoktatási idő után 3 téglát (12 cm x 24 cm x 6 cm) helyeztünk az arénaá egymástól egyenlő távolságra (0,5 m). Az egyik téglát nem volt előjelölve, míg a másik kettőt nőtények előjelölték. Az előjelöltetéshez a téglát a nőtény ketrecébe helyeztük, addig, amíg 7 jelet rá nem rakott. Az előjelöltetéshez 16 különböző, nem szűz felnőtt nőtény nyulat használtunk. Minden nőtény nyúl párja hasonló színű volt, jelezve hogy hasonló receptív fázisban vannak (Moody and McNitt 1988; McNitt and Moody 1989).

A nőtények kiválasztásához megmértük a gátméretüket a fentiekben leírtakkal megegyező módon. Korábbi vizsgálatainkból ismert, hogy a felnőtt nőtény nyulak AGD-je 9 és 16 mm közt változik. Kis AGD-s csoportba soroltunk egy nőtényt, ha AGD-je 12 mm vagy kisebb volt és nagy AGD-s csoportba soroltunk egy nőtényt, ha AGD-je 14 mm vagy annál nagyobb volt (az AGD méret skálája különbözik a házi és üreginyulaknál, mivel a házinyulak testmérete sokkal nagyobb). Minden tesztbe a nem jelölt téglát mellé egy nagy és egy kis AGD-s nőtény által előjelölt téglát került. Az előjelöltetett téglát fél órán belül felhasználtuk a tesztben.

Annak érdekében, hogy kizárjuk az esetleges oldalhatást a téglák elhelyezése a tesztben véletlenszerűen történt. Minden téglát csak egyszer használtunk fel a tesztben

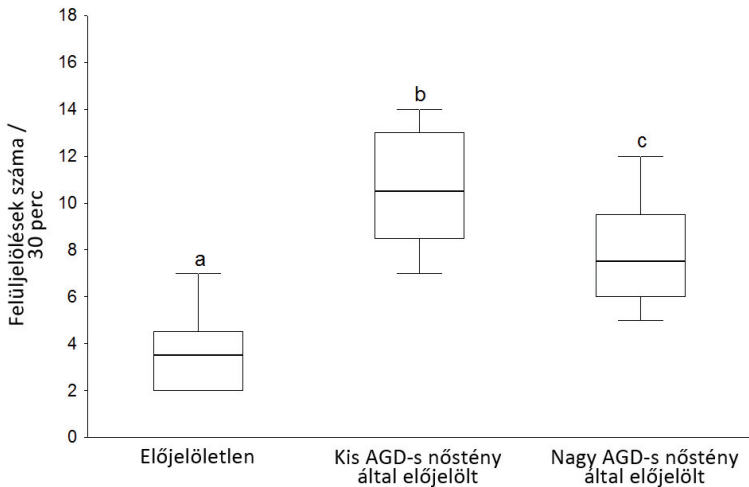
során. A teszt a téglák behelyezése után 30 percig tartott, mialatt feljegyeztük a bakok felüljelölésének számát az egyes téglákra.

3.4.3.1.1. Statisztikai módszerek

A különböző téglákra tett jelölések számát Friedman teszttel hasonlítottuk össze. A csoportok közötti összehasonlítást páronkénti Wilcoxon teszttel végeztük.

3.4.3.2. Eredmények

A bakok felüljelöléseinek száma az egyes téglákon különbözött az előjelölő nőtények AGD mérete alapján. Több felüljelölés történt a kis AGD-s nőtények jeleit tartalmazó téglákra, mint a nagy AGD-s nőtények jeleit tartalmazóakra. (Friedman-teszt: $\chi^2 = 12,8$, $df = 3$, $p < 0,01$) (Ábra 3.4.3.2.1.).



3.4.3.2.1. Ábra. Bakok felüljelöléseinek száma a téglákon. A bakok felüljelölésének száma az előzőleg kis AGD-s nőtények által előjelölteken a legmagasabb. A dobozokban a vastag vonal a mediánt, a dobozok a felső és az alsó kvartilist, a dobozból kiinduló vertikális vonalak a maximum és minimum értékeket mutatják. Az dobozok felett található betűk a Wilcoxon teszttel kapott statisztikai különbséget mutatják.

A bakok többet jelöltek azokra a téglákra, melyeket korábban a kis AGD-s nőstények előjelöltek, mint azokra, melyeket korábban nagy AGD-s nőstények jelöltek elő. A dobozban a vastag vonal a mediánt, a dobozok a felső és az alsó kvartilist, a dobozból kiinduló vertikális vonalak a maximum és minimum értékeket mutatják. Az oszlopok felett található betűk a Wilcoxon post-hoc teszttel kapott statisztikai különbséget mutatják.

3.4.3.3. *Diszkussió*

Az ebben a vizsgálatban megismert eredmények tovább szélesítik az eddigi ismereteket a nyulak párválasztásáról és szaporodási sikereiről. A vadon élő üreginyulak fekunditása megjósolható az AGD méretükből. A nagy AGD-s nőstények kisebb és könnyebb almokat hoznak világra. Ezekben az almokban az alomméret csökkenését nem követte a kisnyulak egyedi születési súlyának növekedése, melyből következik, hogy a különbséget az almok súlyában az alomméret befolyásolta, minthogy ez a két változó pozitívan korrelált egymással.

A korábbi vizsgálatokban leírtuk, hogy nőstény nyulak esetében – mint számos rágcsálónál is – a nagyobb AGD a születés előtti extra tesztoszteron hatás egyik következménye. Madarak esetében is ismert, hogy egy tojó emelkedett tesztoszteron szintje negatív hatással van a fekunditására, extra tesztoszteron hatására pedig a fészekalj ivararánya a hímek felé tolódik el (Rutkowska, Cichon et al. 2005; Goerlich, Dijkstra et al. 2009).

A nagy AGD-s nőstények (valószínűleg 2M-es nőstények) almaiban az ivararány a hímek felé tolódik el. Az ivararány összetételének részletesebb vizsgálata azt mutatja, hogy szignifikánsan kevesebb nőstény utódja (átlag: $1,2 \pm 1,0$) van egy nagy AGD-s anyának, mint egy kis AGD-snek (átlag: $2,9 \pm 0,8$), miközben a hímek száma megegyezik az almaikban. Ez ellentétben áll a korábban háziyulón végzett vizsgálatok eredményeivel, melyben azt írták le, hogy a kis AGD-s nőstények almaiban található a kevesebb hím utód (Csatádi 2007). A anyák almaiban kialakuló eltérő ivararány hátterében álló mechanizmus nyulak esetében még nem ismert, de valószínűsíthető, hogy az anyai hormonszinttel áll kapcsolatban (Grant 2007). Más emlősök esetében egyes szerzők a ivar specifikus embrió elhalást és visszaszívást (felszívást) (Krackow 1992), vagy a megtermékenyülés időpontját valószínűsítik (Krackow and Burgoyne

1997), mint az ivararány fő kialakítóját. Nyulak esetében a vemhes anyák tesztoszteronnal való kezelése megnöveli a spontán abortusz vagy embrió visszaszívás esélyét (Fuller, Zarrow et al. 1970). Fontosnak tartom megjegyezni, hogy az előző vizsgálatunkban is tapasztaltunk alomméret csökkenést a tesztoszteron kezelés hatására, de az eltérés nem volt szignifikáns. Az ivar specifikus embrió elhalást és visszaszívást már több emlős esetében is leírták (Gosling 1986; Pratt and Lisk 1989; Krackow 1990; Krackow 1992; Krackow 1995). Eredményeink is ezt a feltételezést támogatják, mivel a nagy AGD-s anyák alom mérete lecsökken, de a hímek száma változatlan marad.

Az előjelölések befolyásolják egy állat felüljelölő aktivitását. Nyulak esetében a bakok több jelet tesznek egy téglára, ha azt egy nőstény előjelölte, és megfordítva, a nőstények több jelet tesznek egy téglára, ha azt egy hím előjelölte (Hudson and Vodermayr 1992). Bár a felüljelölés funkciója még nem ismert, de szerepe lehet az állat csoporton belüli szerepének, dominanciájának és/vagy territóriumának kialakításában és fenntartásában. Hudson és Vodermayr (1992) szerint, – mivel a bakok többet jelölik felül a nőstények által előjelölt téglákat, mint a nem jelölteket – a felüljelölésnek a lényege egy „szexuális hirdetés”. Megjegyzendő, hogy tesztjeikben nem kontrolláltak arra, hogy hány álljelet hordoz a teszt objektum, így azoknak mennyiségében és minőségében eltérések lehettek.

A mi vizsgálatunkban kiderült, hogy a hímek különbséget tesznek a nőstények álljelei között, annak függvényében, hogy az kis vagy nagy AGD-s nősténytől származott. Ez azt sugallja, hogy a jel minőségét szintén befolyásolhatja a születés előtti tesztoszteron hatás. A hímek erőteljesebb választ mutattak a kis AGD-s nőstény jeleire, jobban felüljelölték azt, mint a nagy AGD-s nősténytől származó jeleket. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a nyulak szag kommunikációja lehetővé teszi, hogy a bak kiválassza a fertilisebb és fekundabb nőstényeket, melyek nagyobb és valószínűleg jobb minőségű almot képesek létrehozni és ezáltal a bak előnyhöz jut választásával.

4. Általános diszkusszió:

A dolgozat a születés előtti és utáni epigenetikus hatások kísérletes vizsgálatát ismerteti nyulakon. Ezt a témakört eddig főleg rágcsálókon vizsgálták, mi ezeket az eredményeket egy eddig nem vizsgált rend egyik faján, a *Lagomorpha* rendbe tartozó üreginyúlra és annak háziasított formájára, a házinyúlra ültették át. A nyulak nemi differenciálódását befolyásoló tényezők reprodukciós hatásait az alábbi fejezetekben ismertetem.

4.1. A méhen belüli pozíció reprodukciós hatásai

Vizsgálataink szerint nyulak esetében egy nőstény magzat méhen belüli pozíciója hatással van későbbi reprodukciós kapacitására, morfológiájára és viselkedésére (lásd 3.1 és 3.4-es fejezet). Hím szomszédok között fejlődő nőstényeknek a prenatális tesztoszteron hatására csökken a szaporodási kapacitása. Ezek az eredmények egybevágóak a korábban rágcsálókon végzett kísérletek eredményeivel. Ismert, hogy a méhen belül két hím szomszédal rendelkező nőstények ivarérese később következik be, kevesebb életképes almot hoznak a világra életük során, és fiatalabb korban fejezik be a szaporodást (McDermott, Gandelman et al. 1978; vom Saal and Moyer 1985; Clark and Galef 1988; Monclús and Blumstein 2012), mint a prenatálisan hím szomszédal nem rendelkező testvéreik. A nagy AGD-s (feltételezhetően 2M-es) nőstények kisebb almot hoznak a világra és ezekben az ivararány a hímek felé tolódik el (Kinsley, Konen et al. 1986; Clark, Karpiuk et al. 1993; Vandenbergh and Huggett 1994; Clark and Galef 1995a; Clark, Vonk et al. 1997). Ebből következik, hogy amennyiben egy 2M-es nősténynek nőstény utódja születik, az nagy valószínűséggel a méhben 2 hím között helyezkedett el. Így születés előtt ő is extra tesztoszteronnak lesz kitéve és fejlődésében majd az anyjára is jellemző maskulinizáció figyelhető meg. Más szóval egy 2M-es nőstény nagy valószínűséggel 2M-es, és egy 0M-es nagy valószínűséggel 0M-es utódokat hoz a világra. Ez a jelenség egy nem genetikus hatás, mely anyai ágon öröklődő, fajon belüli nőstény típusokat eredményez (Clark, Karpiuk et al. 1993).

Saját eredményeink alapján kijelenthető, hogy nyulak esetében is megtalálható az AGD és alomméret/ivararány összefüggés (lásd 3.4. fejezet). Az ivararány összetétel

részletesebb vizsgálata megmutatta, hogy a kis és nagy AGD-s nyúl anyák almaiban a hímek száma megegyezik, azonban a nagy AGD-s anyák almaiban szignifikánsan kevesebb nőtény utód található. Hirlemann & Spetz (1990) ugyanezt figyelték meg 2M-es egér anyák almaiban. Az ivararány és alomméret közti negatív kapcsolatot vaddisznó esetében is leírták. Az átlagosnál kisebb méretű almokban a hímek felé tolódott az ivararány (Servanty, Gaillard et al. 2007). Mivel mások ellentétes előjelű ivararány eltolódást is leírtak, például a gímszarvas egymás utáni borjainál, további vizsgálatok szükségesek (Clutton-Brock, Albon et al. 1984; Clutton-Brock and Iason 1986). Egy újabb kutatás, mely szintén sertéseken készült, azt mutatja, hogy az alom ivararánya, amelyből egy nőtény származik, összefüggésben van azzal, hogy ő mekkora almot ellik: minél több nőtény testvére van egy anyának, annál nagyobb és életképesebb almot hoz világra (Rekiel, Więcek et al. 2012).

Felvethető, hogy mire vezethető vissza az alomméret-beli változás. Egyesek szerint lehet a születés utáni kannibalizmus következménye. Azonban ezt a feltételezést elvetném, mivel korábbi, egéren és mongol futóegéren végzett vizsgálatokban (Hirlemann, Spetz et al. 1990; Clark and Galf 1995a) az utódokat császár-metszéssel segítették világra és ezekben a vizsgálatokban is tapasztalható volt az alomméret-beli eltérés az anyák között. Az első kísérletünk során, ahol az ellés általunk kontrolált körülmények között történt, ezért pontosan tudtuk a megszületett utódok számát, elvethetjük a nyulaknál a kannibalizmust, mint ivararány módosító mechanizmust.

A szülői ráfordítás elmélete szerint a szülőnek olyan nemű utódba érdemes fektetnie, amely révén nagyobb eséllyel nő szaporodási sikere (Trivers and Willard 1973). Bár számos példa ismert az adaptív ivararány módosulásra (Myers 1978; Williams 1979; Clutton-Brock and Iason 1986; Hardy 1997; Sheldon and West 2004), az eltolódás hátterében álló mechanizmus még nem ismert. Hagyományos felfogás szerint emlősök esetében egyenlő számú X és Y kromoszómát tartalmazó spermium képződik. Ezeknek ugyanannyi esélyük van elérni a petesejtet, és ezáltal egyenlő számú hím és nőtény zigóta jöhet létre, ami alapján kijelenthető lenne, hogy az ivararány eltolódás a megtermékenyülés és a születés közt jön létre (James 1996). Azonban még a megtermékenyítés előtt bekövetkezhetnek bizonyos ivararányt módosító hatások. Egy újabb kutatás szerint egyes környezeti hatások befolyással vannak a hímekben található X és Y kromoszómát tartalmazó spermiumok arányára (Robbins, Wei et al. 2008).

Vizsgálataink esetében elvethető a feltételezés, hogy a kísérletbe bevont bakokra valamilyen ehhez hasonló környezeti tényező hatott volna, befolyásolva a termelő ivarsejtek arányát, mivel az almok mérete vagy ivararánya és a bakok közt nem találtunk semmilyen összefüggést. Egy másik, még megtermékenyítés előtti hatás lehet, ha valamelyik spermium számára nem megfelelő a nőtény belső környezete. Ismert, hogy bizonyos esetekben a nőtény szervezetében egy hím specifikus (H-Y) antigén ellen immunitás léphet fel (Gordon, Simpson et al. 1975; Goulmy, Termijtelen et al. 1977). Amennyiben ez a mi nyulaink esetében is így lenne, akkor a hím utódok számának kellett volna csökkennie és ez az alomméretre nem lett volna hatással.

Ivararányt befolyásoló tényező lehet a megtermékenyülés időpontja is. Azok a nőtény patkányok, melyek az ovulációhoz közeli időpontban pároztak, több nőtény utódot hoztak világra, mint azok, melyek pár órával az ovuláció előtt vagy után pároztak (Hedricks and McClintock 1990). Hasonló eredményt találtak egyes egér törzseknél (Krackow and Burgoyne 1997), arany hörcsögöknél (Huck, Seger et al. 1990), birkáknál (Gutierrez-Adan, Perez-Garnelo et al. 1999), marháknál (Pursley, Silcox et al. 1998) és egyes vizsgálatokban embernél is (Guerrero 1974; Guerrero 1975). Azonban ez a jelenség szintén nincs hatással az alomméretre. Megjegyzendő, hogy – bár a nyulaknál a párzás hatására bekövetkező indukált ovuláció van – a peték megtermékenyülésében és beágyazódásukban lehetnek időbeli eltérések (Walton and Hammond 1928).

Ha az eddigiek szerint nyulak esetében azonos számú hím és nőtény zigóta jön létre, akkor az alomméret csökkenés hátterében már csak a méhen belüli embrió elhalás és felszívódás állhat. Nem tisztázott, hogy ez hogyan következik be. Más emlősöknél az anya hormon háztartása játszik szerepet az embrió elhalásban (Grant 2007). Stressz hatására az anya szervezetében a petefészekben és mellékvesében a tesztoszteron termelés emelkedik (Christiansen 2004; Catalano, Bruckner et al. 2006) és ez abortuszt vagy embrió elhalást és visszaszívást okozhat (Fuller, Zarrow et al. 1970; Pratt and Lisk 1989). Számos fajnál leírták, hogy ez a hatás nemre szelektív, így befolyással van az ivararányra is (Gosling 1986; Pratt and Lisk 1989; Krackow 1990; Krackow 1992; Krackow 1995). A tesztoszteron hatását a fészekalj ivararányára madarak esetében is leírták (Rutkowska, Cichon et al. 2005; Goerlich, Dijkstra et al. 2009).

Bár egyedül mongol futóegéren mutatták ki, hogy a nagy AGD-s nőtényeknek magasabb a tesztoszteron szintje felnőtt korban (Clark, Crews et al. 1991), számos más

rágcsálófajon kimutatták, hogy a 2M-es nőstények agresszívebbek, gyorsabban kezdeményeznek harcot, nagyobb területet tartanak fent, mint a kis AGD-s (0M-es) nőstények (lásd bevezető). Ezek a viselkedési mintázatok nagyobb stresszel, magasabb szorongási szinttel járhatnak együtt, és ezáltal befolyásolhatják még meg nem született utódaik számát, nemét, morfológiáját és viselkedését.

Az AGD – akárcsak más emlősöknél – nyulak esetében is jól tükrözi az állatot prenatalisan ért tesztoszteron mennyiségét, azonban érdemes lenne egy másik hasonlóan könnyen és nem invazív módon használható markert is bevonni a jövőbeni vizsgálatokba. A nemi differenciációt jellemzi a kettes és négyes ujj hosszának az aránya (2:4 ujj arány), amit az utóbbi évtizedben számos állatsoportnál leírtak, például emberszabású majmoknál (McFadden and Bracht 2003; McFadden and Bracht 2005; McIntyre, Herrmann et al. 2009), rágcsálóknál (Brown, Finn et al. 2002; Leoni, Canova et al. 2005), madaraknál (Burley and Foster 2004; Saino, Rubolini et al. 2007) és hüllőknél (Rubolini, Pupin et al. 2006; Chang 2008). Emberek esetében a 2:4 ujj arány már a magzati fejlődés korai fázisában állandósul (Garn, Burdi et al. 1975) és nemi differenciációt mutat (George 1930; Phelps 1952). Férfiakban az arány kisebb, mint a nőkben és a férfiaknál az arány negatívan korrelál a tesztoszteron szinttel, spermium számmal, agresszióval és dominanciával (Manning, Scutt et al. 1998; Neave, Laing et al. 2003; Bailey and Hurd 2005), továbbá mindkét nem esetében az utódok ivararányával (Manning, Martin et al. 2002). Ismert, hogy a nemi szervek és az ujjak fejlődése is ugyanazoktól a Homeobox génektől és ezeken belül is a HOXA és HOXD sorozatoktól függenek (Kondo, Zákány et al. 1997). Egy mutáció például a HOXA 13 génben, mind a kézen és lábon, mind a nemi szervekben rendellenes fejlődést okoz (Mortlock and Innis 1997). Feltételezhető, hogy a születés előtti tesztoszteron mennyisége ugyanúgy befolyásolhatja a 2:4 ujj arányát, mint az AGD-t (McIntyre 2006). Azonban azok a vizsgálatok melyeket házi egereken végeztek és a hím testvérek születés előtti hatását vizsgálták a 2:4 ujj arányra, nem találtak semmilyen összefüggést (Hurd, Bailey et al. 2008; Manno III 2008). Az embereken végzett tanulmányok eredményei sem egybevágóak. van Anders és mtsai. (2006) ellentétes nemű ikerpárok lány tagjainál a 2:4 ujj arány maskulinizálódását írták le, bizonyítván a születés előtti extra tesztoszteron hatást, melyet a fiú testvér okoz, egy későbbi vizsgálatban Medlad és mtsai. (2008) nem tudták ugyanezt alátámasztani.

4.2. Hogyan befolyásolja a bakok választását a nőstény prenatális előélete?

Ha a 0M-es nőstények korábban lesznek ivarérettek, sikeresebben termékenyülnek meg és több utódot hoznak létre, és tovább maradnak szaporodóképesek, akkor a hímeknek megéri, ha valami alapján ki tudják választani ezeket a nagy szaporodási kapacitással rendelkező partnereket. Mivel a 3.4 fejezetben leírt kísérlet szerint a baknyulak a kis AGD-jű nőstény álljeleire preferenciálisan reagáltak, valószínű, hogy a nyulak esetében is szagjelek alapján történik a megfelelő partner kiválasztása. Egerek esetében is kimutatták, hogy a kis AGD-s nőstények attraktívabbak a hímek számára, már a szagukhoz is sokkal jobban vonzódnak, mint a nagy AGD-s nőstények szagához (Drickamer, Robinson et al. 2001).

A szagjelekre az állatok legtöbbször szagjelekkel válaszolnak. Ezeknek a másodlagos jeleknek a funkciója sok esetben még nem tisztázott, de az biztos, hogy fajonként és nemenként jelentősen eltérhet. A rágszálókról szóló irodalomban több mint tíz hipotézis merült fel a másodlagos jelek funkciójáról (Ferkin and Pierce 2007). Ezek közül a három legáltalánosabb: az ellenjelölés (counter or adjacent marking hypotheses), mely szerint az állat a szagjelét az első jel mellé teszi le, azért hogy azt elnyomja, vagyis kompetíciós jelentősége van; a felüljelölés (over marking hypothesis), mely szerint az állat a jelét az első jelre teszi, azért hogy azt eltakarja, így szintén kompetíciós jelentőséggel bír (Kohli and Ferkin 1999); és az ön-hirdetés (self-advertisement hypothesis), mely szerint az állat a jelét az első jel mellé teszi le, hogy önmaga jelenlétét hirdesse. Egy réti pockokon (*Microtus pennsylvanicus*) végzett vizsgálat sorozatban tesztelték ezeket a hipotéziseket. Kizárták az első hipotézist, mivel a hímek és a nőstények ugyanannyi jelet tettek spontán és a felüljelölési aktivitásuk is megegyezik (Ferkin 1999). A hímek nem tettek több jelet egy másik hímtől származó jelre, mint egy nősténytől származó jelre, és a másodlagos jelölések száma minden esetben az első jelölések száma alatt maradt (Thomas and Kaczmarek 2002). Kizárták a második hipotézist is, mivel a hímek másodlagos jelölései kevesebbszer kerültek az első jelekre, mint melléljük, így elfedni sem akarták azokat. Mivel így a saját jeleiket nem

keverték össze mások jeleivel, eredményeik azt mutatják, hogy a másodlagos jelek fő funkciója az egyedi azonosíthatóság, önmaguk hirdetése volt (Thomas and Wolff 2002).

Nyulak esetében egy másik egyedtől származó jelek szintén befolyásolják a másodlagos jelölő aktivitást mindkét nemnél, jelenlétükre ez az aktivitás növekszik. Saját vizsgálatunk (lásd 3.4. fejezet) szerint a bakok különbséget tettek a nőstények között azok álljelei alapján. Hudson and Vodermayr (1992) vizsgálatában a nőstények felüljelölési aktivitásában különbség volt attól függően, hogy az előjelölés hím vagy nőstény állattól származott, a hímeiktől származókra többet jelöltek. Az ELTE Etológiai Tanszékén szintén végeztek korábban hasonló vizsgálatokat. Dombay és mtsai. (1997) szerint a két nem jeleit mind a bakok, mind a nőstények képesek megkülönböztetni és a nőstények jeleire a bakok, a bakok jeleire a nőstények intenzívebben reagáltak, mint a saját nemüktől származó jelekre, vagy jeleket nem tartalmazó tárgyakra. Értelmezésük szerint ezzel önmagukat hirdetik a másik nem számára, vagyis az ön-hirdetés hipotézist támogatja ez a vizsgálat. Azonban minkét nem esetében az azonos nemű egyedtől származó jelekre is kerültek másodlagos jelek, ráadásul számuk a legtöbb esetben megegyezett az elsődleges jelek számával, ezért az első két hipotézis sem zárható ki teljesen. A Dombay és munkatársai által végzett kísérletsorozatban a különbség a korábbi másodlagos álljelöléssel foglalkozó kutatók vizsgálataihoz képest az volt, hogy kontrolláltak az előzetes jelek számára, így az eredményekben való esetleges eltérés ebből is adódhat.

A kémiai kommunikáció egyik lényeges funkciója, hogy az állat rátaláljon egy ellenkező nemű és megfelelő fajtársára. Összességében elmondható, hogy nyulaknál mindkét nem esetében különösen fontos, hogy megkülönböztessék az egyes nemeket vagy akár az egyes egyedeket az álljeleik alapján. Egy hím növelheti szaporodási sikerét, ha már a szagjelek alapján a megfelelő nőstényt választja. Vizsgálatunkból kiderült, hogy a bakok képesek megkülönböztetni a kis és nagy AGD-s nőstények álljeleit és erősebb felüljelöléssel válaszolnak a kis AGD-s nőstény jeleire (3.4. fejezet). Egy bak maximalizálhatja szaporodási sikerét, ha a kis AGD-s nőstényeket preferálja, és emellett az összes nagy AGD-s nősténnyel párizik, amelyikkel tud. Azonban a nagy AGD-s nőstények nemcsak agresszívek, hanem kisebb almokat is ellenek. Így egy nagy AGD-s nősténybe fektetett idő és energia egy idő után negatív hatással lehet egy indiszkrinatív bak szaporodási sikerére.

4.3. Populációs hatások

Amennyiben a 2M-es nőtények kevésbé vonzóak a hímek számára és alomméretük is kisebb, akkor vajon mi lehet annak hátterében, hogy nem szelektálódtak ki? A válasz valószínűleg a populációk ciklikus denzitás-változásában rejlik. Ahogy a populációban a denzitás elkezd nőni, úgy az egyedek közti interakciók is sűrűsödnek. Az agresszívebb egyedek sikeresebbek lesznek, ebből következik, hogy az agresszív genotípus szelekciós előnyhöz jut (Chitty 1960). Ahogy a denzitás nő, az agresszió is nő, és az agresszív egyedek diszperzióra kényszerítik a kevésbé agresszíveket, melyek vagy elhagyják a területet, vagy elpusztulnak. Azonban az agresszív genotípushoz alacsonyabb reprodukciós kapacitás társul. Az egyedszám lassan csökkenni kezd, az agresszív genotípus szelekciós előnye csökken, a nem agresszív egyedek száma elkezd növekedni (Chitty 1967; Moss and Watson 1980).

A fent említett, Chitty féle hipotézist vom Saal (1984) kiterjesztette és összeolvasztotta a „méhen belüli pozíció hatásai” hipotézisével. Elmélete szerint az egy alomból származó, tehát hasonló genotípusú utódok a méhen belüli pozíciójuk függvényében fenotípusosan különböznek (vom Saal 1981). A különböző méhen belüli pozíciójú egyedek eltérő denzitások mellett az eltérő agresszivitásuk által is különböznek reprodukciós sikerükben. Ahogy a környezet (denzitás) változik, a reprodukciós előnyök is változnak és ezzel együtt a különböző méhen belüli pozíciójú nőtények aránya is változik. A hímek számára a 0M-es nőtények attraktívabbak (vom Saal 1989; Drickamer, Robinson et al. 2001). Azonban növekvő denzitás mellett a 2M-es nőtények, emelkedett szintű agressziójuknak köszönhetően, diszperzióra kényszerítik a 0M-es és 1M-es társaikat és így domináns pozícióba kerülnek. Magas denzitás mellett a 2M-es nőtények sikeresebben szaporodnak, részben mivel elüldözik a konkurenciát, részben pedig azért, mert agresszívebben védelmezik utódaikat (Kinsley, Konen et al. 1986; Palanza, Parmigiani et al. 1995). Mivel a 2M-es nőtények kisebb almokat és inkább hímeket (melyek – emlősök esetében – inkább hagyják el születési területüket) hoznak a világra, ezért a denzitás csökkenni fog, továbbá nőtény utódaik is nagyobb eséllyel 2M-esek lesznek (Hirlemann, Spetz et al. 1990; Clark, Karpiuk et al. 1993). Alacsony denzitásnál pedig a fertilisebb, és kevésbé agresszív 0M-es nőtényeknek lesz nagyobb esélyük szaporodni, melyek nagyobb almokat hoznak a

világra és a nőtények száma is magasabb benne (vom Saal 1984; Cowell, Crowder et al. 1998).

Chitty az agresszívabb genotípus, vom Saal az agresszívabb 2M-es nőtények gyakoriságával magyarázza a populációs ciklusok denzitás változását. Mindkét hipotézis alapja, hogy valamilyen irányú változás történik a különböző típusú egyedek gyakoriságában. Azonban még egy dolgot érdemes megemlíteni: a növekvő denzitás növekvő szociális stresszel jár, ami egy vemhes anyánál hatással van az utódaira (lásd 4.1. fejezet). Stressz hatására az utódok száma csökkenhet és az ivarány a hímek felé tolódhat (Meikle, Drickamer et al. 1993; Braastad 1998), ezáltal a születendő nőtények maskulinizációja figyelhető meg. Valószínűleg ez egy szükségszerű visszacsatolás a populáció denzitás és a reprodukciós kapacitás közt (Zielinski, Vandenbergh et al. 1991; Palanza, Parmigiani et al. 1995; Drickamer 1996; Cowell, Crowder et al. 1998). Természetesen további vizsgálatokat igényel, hogy a nyúl populációk denzitás változásának hátterében állhat-e részben ez a magyarázat. Mindenesetre az biztos, hogy nyulak esetében is elmondható, hogy a hímek inkább a kis AGD-s nőtényeket preferálják, mivel több utódot hoznak a világra és almaikban nagyobb valószínűséggel születik olyan nőtény, melynek nagyobb a reprodukciós kapacitása.

Clark és Galef (1998) azonban felveti, hogy létezhethet egy természetes szelekció, mely a méhen belüli szomszédság hatására kialakuló fenotípus különbségek és az ebből következő reprodukciós hátrányok ellen hat. Elméletük szerint egy anya úgymond „megvédheti” utódait a szomszédos ellenkező nemű magzatok hatásától, ha nemeként elkülöníti őket a két méhszarvban. Mongol futóegereknél ezt a hipotézist sikeresen igazolták: szignifikánsan több hím utód fejlődik a jobb és szignifikánsan több nőtény utód fejlődik a bal méhszarvban (Clark and Galef 1990; Clark, Ham et al. 1994). Ezt a jelenséget nyulaknál is leírták, csak a nemek aránya pont fordítva helyezkedik el, a bal méhszarvban több hím, a jobb méhszarvban több nőtény utód fejlődik (YoungLai, Pan et al. 1981).

Itt azonban megjegyzendő, hogy ez idáig nem sok faj esetében mutatták ki, hogy a különböző méhen belüli pozíciójú nőtények különböznenek az alapvető szaporodási kapacitásukban optimális, laboratóriumi körülmények közt. A természetes környezetükben azonban számos különbség alakulhat ki köztük, többek között a méhen

belüli pozíciójuk függvényében, mely befolyásolja, hogy melyik nőtény pázrik és neveli sikeresebben utódaikat (vom Saal and Bronson 1978; vom Saal and Moyer 1985).

A haszonállatként tartott házinyúlnak elsősorban a hústermelése jelentős. Hazánk Európában jelenleg is jelentős exportörnek számít nyúlhús tekintetében. Az ebben a disszertációban leírt eredmények a nyúl tenyészetekben alkalmazott eljárásokhoz is hozzájárulhatnak a jobb termelés érdekében. Egy nőtény méhen belüli pozíciójának, AGD-jének, az alom ivararányának és ezek kapcsolatának ismerete annak a lehetőségét nyújtja, hogy már születéskor kiválaszthatók legyenek a legmegfelelőbb állatok a tenyésztésre. Ezeknek a jellemzőknek az ismerete az intenzíven tartott fajtáknál hozzá segíthet egy jobb termelési kapacitás kialakításához.

5. Eredmények összefoglalása

A fenti vizgálatsorozat számos új eredménnyel járul hozzá a napjainkban is igen sokat vizgált születés előtti és utáni epigenetikai hatásokhoz. Egyes állatcsoportokon – főleg rágcshálókon – a téma széles körben diszkutált. Eredményeink egy eddig nem vizgált rend egyik fáján, a Lagomorpha rendbe tartozó üreginyúlon és annak háziasított formáján, a házinyúlon születtek.

Az első vizgálatban sikeresen igazoltuk hipotézisünket, miszerint nyulak esetében is létezik a méhen belüli pozíció (szomszédság) hatás: egy nőtény nyúl embriójának minél több hím szomszédja van a méhen belül, annál maszkulinabb lesz. Születéskor nagyobb lesz az AGD-je, és ez a jelenség hosszútávon is állandósul, mivel a felnőttkori AGD jól jósolható a születéskori AGD-ből.

A méhen belüli szomszédságon kívül egyéb faktorok is befolyásolják az utódok fejlődését. Ilyen a magzatok sorrendje is: a petefészkekhez legközelebb található magzatok a legnagyobbak, és a méhszájtól a második pozícióban fejlődnek a legkisebbek (2. vizgálat).

A méhen belüli pozíció a felnőttkori viselkedést is befolyásolja, a méhen 2 hím szomszédal rendelkező nőtények többet és gyorsabban álljelölnek, mint testvéreik. A méhen belüli hormon-kitettségek hosszú távú hatásait igazolja továbbá, hogy pozitív korreláció található a születéskori AGD és a felnőttkori álljelölési aktivitás között.

Következő vizsgálatunkban igazoltuk, hogy a születés előtti extra tesztoszteron hatására a születéskori AGD megnövekszik, ezzel is alátámasztva az első vizsgálat eredményeit. A születés előtti extra tesztoszteron hosszú távú hatását ebben a vizsgálatban is leírtuk: a prenatálisan kezelt állatok súlya kisebb, de AGD-jük és állmírigyük nagyobb lett. A születés előtti extra tesztoszteron a felnőttkori viselkedést is befolyásolta, a tesztoszteronnal kezelt nőtények emelkedett spontán álljelölési aktivitást mutattak.

Vizsgálataink során bizonyítottuk, hogy az AGD méretében tapasztalható változatosság a természetben is megfigyelhető, és funkcionális jelentősége van a felnőtt üreginyúl nőtények között. Egy nőtény nyúl gátmérete kapcsolatban áll leendő almai méretével és ivararányával. A nagy AGD-s nőtények kisebb almokat ellenek és ezekben az almokban a nőtények száma csökken. A bakok a kis gátméretű nőtényeket választják azok álljelei alapján, így az AGD jó markere a nőtény nyúl attraktivitásának.

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm szakdolgozati és doktoranduszi témavezetőimnek – bármi is álljon e dolgozat címlapján – Áginak és Vilinek, a rengeteg önzetlen segítséget, hasznos tanácsot és támogatását. Mindkettőjüket témavezetőimnek gondolom.

Szeretnék köszönetet mondani szüleimnek hogy a mindvégig pótolhatatlan segítséget és támogatást nyújtottak.

Köszönöm mindenkinek, akivel lehetőségem volt együtt dolgozni az évek során – akár a nyulász-ürgész-egeres csoport tagja, akár Etológia Tanszék vagy az ELTE más tanszékein lévő munkatárs – bármiben is segítettek nyújtottak, vagy akár egy jó szavuk volt hozzám. Csizmadia Károly gondos állatápolói és nyúlház fenntartó munkája nagyon értékes segítséget jelentett számomra. Az állatok megfelelő egészségéért és a műtétek pontos elvégzéséért Dr. Jakab Lászlót és Szeti Viktóriát illeti a köszönet.

A magyar és angol nyelvű lektorálásért Madarász Katalinnak és Dévényi Patrícianak tarozom köszönettel.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm Péternek, nyestek szelídítőjének hogy mindvégig hitt bennem és támogatott az elmúlt évek alatt.

Ezek a munkák a T 034931 számú OTKA és a 28696 GEBACO EU FP6 támogatásával készült.

Irodalom:

- Allen, B. M. (1904). The embryonic development of the ovary and testis of the mammals. *American Journal of Anatomy* 3: 89–154.
- Anderson, C. O., M. X. Zarrow and V. H. Denenberg (1970). Maternal behavior in the rabbit: effects of androgen treatment during gestation upon the nest-building behavior of the mother and her offspring. *Hormones and Behavior* 1: 337-345.
- Argente, M. J., M. J. Sanchez, M. A. Santacreu and A. Blasco (1996). Genetic parameters of birth weight and weaning weight in ovariectomised and intact rabbits does. 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France.
- Arnold, A. P. (2002). Concepts of genetic and hormonal induction of vertebrate sexual differentiation in the twentieth century, with special reference to the brain. *Hormones, Brain and Behavior*. D. W. Pfaff, A. Arnold, A. Etgen, S. Fahrbach and R. Rubin. San Diego, Academic Press. 4: 105-135.
- Arteaga, L., A. Bautista, M. Martínez-Gómez, L. Nicolás and R. Hudson (2008). Scent marking, dominance and serum testosterone levels in male domestic rabbits. *Physiology & Behavior* 94: 510-515.
- Bailey, A. A. and P. L. Hurd (2005). Finger length ratio (2D: 4D) correlates with physical aggression in men but not in women. *Biological Psychology* 68: 215-222.
- Barr M. Jr, R. P. Jensch and R. L. Brent (1969). Fetal weight and intrauterine position in rats. *Teratology* 2: 241-246.
- Barr M. Jr, R. P. Jensch and R. L. Brent (1970). Prenatal growth in the albino rat: Effects of number, intrauterine position and resorptions. *American Journal of Anatomy* 128: 413-427.
- Baum, M. J., P. J. Woutersen and A. K. Slob (1991). Sex difference in whole-body androgen content in rats on fetal days 18 and 19 without evidence that androgen passes from males to females. *Biology of Reproduction* 44: 747-751.
- Beach, F. A. (1976). Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior* 7: 105-138.
- Beyer, C., K. L. Hoffman and O. González-Flores (2007). Neuroendocrine regulation of estrous behavior in the rabbit: Similarities and differences with the rat. *Hormones and Behavior* 52: 2-11.
- Bilkó, Á. and V. Altbäcker (2000). Regular handling early in the nursing period eliminates fear responses toward human beings in wild and domestic rabbits. *Developmental Psychobiology* 36: 78-87.
- Bilkó, Á., V. Altbäcker and R. Hudson (1994). Transmission of food preference in the rabbit: the means of information transfer. *Physiology & Behavior* 56: 907-912.
- Blasco, A., M. J. Argente, C. S. Haley and M. A. Santacreu (1994). Relationships between components of litter size in unilaterally ovariectomized and intact rabbit does. *Journal of Animal Science* 72: 3066-3072.
- Braastad, B. O. (1998). Effects of prenatal stress on behaviour of offspring of laboratory and farmed mammals. *Applied Animal Behaviour Science* 61: 159-180.
- Briganti, F., D. D. Seta, G. Fontani, L. Lodi and C. Lupo (2003). Behavioral effects of testosterone in relation to social rank in the male rabbit. *Aggressive Behavior* 29: 269-278.

- Brown-Grant, K. and M. R. Sherwood (1971). The "early androgen syndrome" in the guinea-pig. *Journal of Endocrinology* 49: 277-291.
- Brown, W. M., C. J. Finn and S. M. Breedlove (2002). Sexual dimorphism in digit-length ratios of laboratory mice. *The Anatomical Record* 267: 231-234.
- Bruce, N. W. and R. W. Abdul-Karim (1973). Relationships between fetal weight, placental weight and maternal placental circulation in the rabbit at different stages of gestation. *Journal of Reproduction and Fertility* 32: 15-24.
- Bulman-Fleming, B. and D. Wahlsten (1991). The effects of intrauterine position on the degree of corpus callosum deficiency in two substrains of BALB/c mice. *Developmental Psychobiology* 24: 395-412.
- Burley, N. T. and V. S. Foster (2004). Digit ratio varies with sex, egg order and strength of mate preference in zebra finches. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 271: 239-244.
- Cantoni, D., O. Glaizot and R. E. Brown (1999). Effects of sex composition of the litter on anogenital distance in California mice (*Peromyscus californicus*). *Canadian Journal of Zoology* 77: 124-131.
- Capel, B. and D. Coveney (2004). Frank Lillie's freemartin: illuminating the pathway to 21st century reproductive endocrinology. *Journal of Experimental Zoology, Part A: Comparative Experimental Biology* 301: 853-856.
- Catalano, R., T. Bruckner, A. Marks and B. Eskenazi (2006). Exogenous shocks to the human sex ratio: the case of September 11, 2001 in New York City. *Human Reproduction* 21: 3127.
- Cerbón, M. A., I. Camacho-Arroyo, A. Gamboa-Domínguez and G. González-Mariscal (1996). The rabbit submandibular gland: sexual dimorphism, effects of gonadectomy, and variations across the female reproductive cycle. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 178: 351-357.
- Chang, J. L. (2008). Sexual dimorphism of the second-to-fourth digit length ratio (2D: 4D) in the strawberry poison dart frog (*Oophaga pumilio*) in Costa Rica. *Journal of Herpetology* 42: 414-416.
- Chitty, D. (1960). Population processes in the vole and their relevance to general theory. *Canadian Journal of Zoology* 38: 99-113.
- Chitty, D. (1967). The natural selection of self-regulatory behaviour in animal populations. *Proceedings of the Ecological Society of Australia* 2: 51-78.
- Chrino, R., G. González-Mariscal, P. Carrillo, P. Pacheco and R. Hudson (1993). Effect of removing the chin gland on chin-marking behaviour in male rabbits of the New Zealand race. *Mammalian Biology* 58: 116-121.
- Christiansen, K. (2004). Behavioural correlates of testosterone. *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*. E. Nieschlag, H. M. Behre and S. Nieschlag. Cambridge, Cambridge University Press: 125-171.
- Clark, M. M., S. Bone and B. G. Galef, Jr. (1989). Uterine positions and schedules of urination: Correlates of differential maternal anogenital stimulation. *Developmental Psychobiology* 22: 389-400.
- Clark, M. M., D. Crews and B. G. Galef, Jr. (1991). Concentrations of sex steroid hormones in pregnant and fetal Mongolian gerbils. *Physiology & Behavior* 49: 239-243.
- Clark, M. M., D. Desousa, J. Vonk and B. G. Galef, Jr. (1997). Parenting and potency: alternative routes to reproductive success in male Mongolian gerbils. *Animal Behaviour* 54: 635-642.
- Clark, M. M. and B. G. Galef, Jr. (1988). Effects of uterine position on rate of sexual development in female Mongolian gerbils. *Physiology & Behavior* 42: 15-18.

- Clark, M. M. and B. G. Galef, Jr. (1990). Sexual segregation in the left and right horns of the gerbil uterus: "The male embryo is usually on the right, the female on the left" (Hippocrates). *Developmental Psychobiology* 23: 29-37.
- Clark, M. M. and B. G. Galef, Jr. (1995a). A gerbil dam's fetal intrauterine position affects the sex-ratios of litters she gestates. *Physiology & Behavior* 57: 297-299.
- Clark, M. M. and B. G. Galef, Jr. (1995b). Prenatal influences on reproductive life-history strategies. *Trends in Ecology & Evolution* 10: 151-153.
- Clark, M. M. and B. G. Galef, Jr. (1998). Effects of intrauterine position on the behavior and genital morphology of litter-bearing rodents. *Developmental Neuropsychology* 14: 197-211.
- Clark, M. M., M. Ham and B. G. Galef, Jr. (1994). Differences in the sex ratios of offspring originating in the right and left ovaries of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 393-396.
- Clark, M. M., P. Karpiuk and B. G. Galef, Jr. (1993). Hormonally mediated inheritance of acquired characteristics in Mongolian gerbils. *Nature* 364: 712.
- Clark, M. M., S. A. Malenfant, D. A. Winter and B. G. Galef, Jr. (1990). Fetal uterine position affects copulation and scent marking by adult male gerbils. *Physiology & Behavior* 47: 301-305.
- Clark, M. M., L. Tucker and B. G. Galef, Jr. (1992). Stud males and dud males: intra-uterine position effects on the reproductive success of male gerbils. *Animal Behaviour* 43: 215-221.
- Clark, M. M., F. S. vom Saal and B. G. Galef, Jr. (1992). Intrauterine positions and testosterone levels of adult male gerbils are correlated. *Physiology & Behavior* 51: 957-960.
- Clark, M. M., J. M. Vonk and B. G. Galef, Jr. (1997). Reproductive profiles of adult Mongolian gerbils gestated as the sole fetus in a uterine horn. *Physiology & Behavior* 61: 77-81.
- Clemens, L. G., B. A. Gladue and L. P. Coniglio (1978). Prenatal endogenous androgenic influences on masculine sexual behavior and genital morphology in male and female rats. *Hormones and Behavior* 10: 40-53.
- Clutton-Brock, T. H., S. D. Albon and F. E. Guinness (1984). Maternal dominance, breeding success and birth sex ratios in red deer. *Nature* 308: 358-360.
- Clutton-Brock, T. H. and G. R. Iason (1986). Sex ratio variation in mammals. *The Quarterly Review of Biology* 61: 339-374.
- Cohen-Bendahan, C. C. C., J. K. Buitelaar, S. H. M. van Goozen and P. T. Cohen-Kettenis (2004). Prenatal exposure to testosterone and functional cerebral lateralization: a study in same-sex and opposite-sex twin girls. *Psychoneuroendocrinology* 29: 911-916.
- Cohen-Bendahan, C. C. C., J. K. Buitelaar, S. H. M. van Goozen, J. F. Orlebeke and P. T. Cohen-Kettenis (2005). Is there an effect of prenatal testosterone on aggression and other behavioral traits? A study comparing same-sex and opposite-sex twin girls. *Hormones and Behavior* 47: 230-237.
- Cohen-Bendahan, C. C. C., C. van de Beek and S. A. Berenbaum (2005). Prenatal sex hormone effects on child and adult sex-typed behavior: methods and findings. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29: 353-384.
- Cowan, D. P. (1987). Aspects of the social organisation of the European wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Ethology* 75: 197-210.
- Cowell, L. G., L. B. Crowder and T. B. Kepler (1998). Density-dependent prenatal androgen exposure as an endogenous mechanism for the generation of cycles in small mammal populations. *Journal of Theoretical Biology* 190: 93-106.

- Culbert, K. M., S. M. Breedlove, S. A. Burt and K. L. Klump (2008). Prenatal hormone exposure and risk for eating disorders: a comparison of opposite-sex and same-sex twins. *Archives of General Psychiatry* 65: 329-336.
- Csatádi, K. (2007). A korai kezelés és a korai táplálkozási tapasztalatok hatása a nyúl (*Oryctolagus cuniculus*) viselkedésének egyedfejlődésére. ELTE, TTK, Etológia tanszék.
- Csatádi, K., V. Altbäcker and Á. Bilkó (manuscript). Vulva colour and ano-genital distance as predictors of breeding status in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*).
- Dahlöf, L. G., E. Hård and K. Larsson (1978). Influence of maternal stress on the development of the fetal genital system. *Physiology & Behavior* 20: 193-195.
- Davies, J., E. B. Brown, D. Stewart, C. W. Terry and J. Sisson (1959). Transfer of radioactive iron via the placenta and accessory fetal membranes in the rabbit. *American Journal of Physiology* 197: 87-92.
- Dombay, K. (1997). Kommunikáció az üreginyúlnál: dobantás és álljelölés. ELTE, TTK, Etológia tanszék.
- Dombay, K., Á. Bilkó and V. Altbäcker (1997). Chemical communication in the rabbit: the meaning of chin marking. *Ethology* 32: 135.
- Drickamer, L. C. (1996). Intra-uterine position and anogenital distance in house mice: consequences under field conditions. *Animal Behaviour* 51: 925-934.
- Drickamer, L. C., R. D. Arthur and T. L. Rosenthal (1997). Conception failure in swine: importance of the sex ratio of a female's birth litter and tests of other factors. *Journal of Animal Science* 75: 2192-2196.
- Drickamer, L. C., A. S. Robinson and C. A. Mossman (2001). Differential responses to same and opposite sex odors by adult house mice are associated with anogenital distance. *Ethology* 107: 509-519.
- Drickamer, L. C., T. L. Rosenthal and R. D. Arthur (1999). Factors affecting the number of teats in pigs. *Journal of Reproduction and Fertility* 115: 97-100.
- Duncan, S. L. B. (1969). The partition of uterine blood flow in the pregnant rabbit. *The Journal of Physiology* 204: 421-433.
- Dziuk, P. J. (1968). Effect of number of embryos and uterine space on embryo survival in the pig. *Journal of Animal Science* 27: 673-676.
- Elswick, B. A., F. J. Miller and F. Welsch (2001). Comments to the editor concerning the paper entitled "reproductive malformation of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals" by C. Gupta *Experimental Biology and Medicine* 226: 74-75.
- Even, M. D., M. G. Dhar and F. S. vom Saal (1992). Transport of steroids between fetuses via amniotic-fluid in relation to the intrauterine position phenomenon in rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 96: 709-716.
- Faber, J. J. and F. M. Hart (1967). Transfer of charged and uncharged molecules in the placenta of the rabbit. *American Journal of Physiology* 213: 890-894.
- Faber, K. A. and C. L. Hughes (1992). Anogenital distance at birth as a predictor of volume of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area of the hypothalamus and pituitary responsiveness in castrated adult rats. *Biology of Reproduction* 46: 101-104.
- Fábián, G. and G. Stohl (1952). Adatok az üreginyúl életmódjához. *A Magyar Tudományos Akadémia Biológiai osztályának közleményei* 1: 157-163.
- Ferkin, M. H. (1999). Meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*, arvicolidae) over-mark and adjacent-mark the scent marks of same-sex conspecifics. *Ethology* 105: 825-837.
- Ferkin, M. H. and A. A. Pierce (2007). Perspectives on over-marking: is it good to be on top? *Journal of Ethology* 25: 107-116.

- Fleming, D. E., R. H. Anderson and R. W. Rhees (1986). Effects of prenatal stress on sexually dimorphic asymmetries in the cerebral cortex of the male rat. *Brain Research Bulletin* 16: 395-398.
- Flexner, L. B. and H. A. Pohl (1941). The transfer of radioactive sodium across the placenta of the rabbit. *American Journal of Physiology* 134: 344-349.
- Forger, N. G., B. G. Galef Jr and M. M. Clark (1996). Intrauterine position affects motoneuron number and muscle size in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Brain Research* 735: 119-124.
- Freeman, G. (2007). Explaining the freemartin: Tandler and Keller vs. Lillie and the question of priority. *Journal of Experimental Zoology, Part B: Molecular and Developmental Evolution* 308: 105-112.
- Fuller, G. B., M. X. Zarrow, C. O. Anderson and V. H. Denenberg (1970). Testosterone propionate during gestation in the rabbit: effect on subsequent maternal behaviour. *Journal of Reproduction and Fertility* 23: 285-290.
- Gallavan, R. H. J., J. F. Holson, D. G. Stump, K. J. F. and V. L. Reynolds (1999). Interpreting the toxicologic significance of alterations in anogenital distance: potential for confounding effects of progeny body weights *Reproductive Toxicology* 13: 383-390.
- Gandelman, R. (1986). Uterine position and the activation of male sexual activity in testosterone propionate-treated female guinea pigs. *Hormones and Behavior* 20: 287-293.
- Gandelman, R. and S. Graham (1986). Singleton female mouse fetuses are subsequently unresponsive to the aggression-activating property of testosterone. *Physiology & Behavior* 37: 465-467.
- Gandelman, R., C. Rosenthal and S. M. Howard (1980). Exposure of female mouse fetuses of various ages to testosterone and the later activation of intraspecific fighting. *Physiology & Behavior* 25: 333-335.
- Gandelman, R., N. G. Simon and N. McDermott (1979). Prenatal exposure to testosterone and its precursors influences morphology and later behavioral responsiveness to testosterone of female mice. *Physiology & Behavior* 23: 23-26.
- Gandelman, R., F. S. vom Saal and J. M. Reinisch (1977). Contiguity to male fetuses affects morphology and behavior of female mice. *Nature* 266: 722-724.
- Garn, S. M., A. R. Burdi, W. J. Babler and S. Stinson (1975). Early prenatal attainment of adult metacarpal-phalangeal rankings and proportions. *American Journal of Physical Anthropology* 43: 327-332.
- George, R. (1930). Human finger types. *The Anatomical Record* 46: 199-204.
- Goerlich, V. C., C. Dijkstra, S. M. Schaafsma and T. G. G. Groothuis (2009). Testosterone has a long-term effect on primary sex ratio of first eggs in pigeons--in search of a mechanism. *General and Comparative Endocrinology* 163: 184-192.
- González-Mariscal, G., P. Jiménez, C. Beyer and J. S. Rosenblatt (2003). Androgens stimulate specific aspects of maternal nest-building and reduce food intake in rabbits. *Hormones and Behavior* 43: 312-317.
- González-Mariscal, G., A. I. Melo, A. Zavala and C. Beyer (1990). Variations in chin-marking behavior of New-Zealand female rabbits throughout the whole reproductive-cycle. *Physiology & Behavior* 48: 361-365.
- González-Mariscal, G., A. I. Melo, A. Zavala and C. Beyer (1992). Chin-marking behavior in male and female New Zealand rabbits: Onset, development, and activation by steroids *Physiology & Behavior* 52: 889-893
- González-Mariscal, G., A. I. Melo, A. Zavala, R. Chirino and C. Beyer (1993). Sex steroid regulation of chin-marking behavior in male New Zealand rabbits. *Physiology & Behavior* 54: 1035-1040.

- Goodrich, B. S. and R. Mykytowycz (1972). Individual and sex differences in the chemical composition of pheromone-like substances from the skin glands of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Journal of Mammalogy* 53: 540-548.
- Gordon, R. D., E. Simpson and L. E. Samelson (1975). In vitro cell-mediated immune responses to the male specific (HY) antigen in mice. *The Journal of Experimental Medicine* 142: 1108.
- Gosling, L. M. (1982). A reassessment of the function of scent marking in territories. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 60: 89-118.
- Gosling, L. M. (1986). Selective abortion of entire litters in the coypu: adaptive control of offspring production in relation to quality and sex. *The American Naturalist* 127: 772-795.
- Gosling, L. M. and S. C. Roberts (2001). Scent-marking by male mammals: cheat-proof signals to competitors and mates. *Advances in the Study of Behavior*. P. J. B. Slater, J. S. Rosenblatt, C. T. Snowdon and T. J. Roper. San Diego, Academic Press. 30: 169-218.
- Goulmy, E., A. Termijtelen, B. Bradley and J. Van Rood (1977). Y-antigen killing by T cells of women is restricted by HLA. *Nature* 266: 544 - 545.
- Graham, S. and R. Gandelman (1986). The expression of anogenital distance data in the mouse. *Physiology & Behavior* 36: 103-104.
- Grant, V. J. (2007). Could maternal testosterone levels govern mammalian sex ratio deviations? *Journal of Theoretical Biology* 246: 708-719.
- Guerrero, R. (1974). Association of the type and time of insemination within the menstrual cycle with the human sex ratio at birth. *New England Journal of Medicine* 291: 1056-1059.
- Guerrero, R. (1975). Type and time of insemination within the menstrual cycle and the human sex ratio at birth. *Studies in Family Planning* 6: 367-371.
- Gutierrez-Adan, A., S. Perez-Garnelo, J. Granados, J. Garde, M. Perez-Guzman, B. Pintado and J. De La Fuente (1999). Relationship between sex ratio and time of insemination according to both time of ovulation and maturational state of oocyte. *Zygote* 7: 37-44.
- Hardy, I. C. W. (1997). Possible factors influencing vertebrate sex ratios: an introductory overview. *Applied Animal Behaviour Science* 51: 217-241.
- Harris, G. W. and S. Levine (1965). Sexual differentiation of the brain and its experimental control. *The Journal of Physiology* 181: 379-400.
- Hauser, H. and R. Gandelman (1983). Contiguity to males in utero affects avoidance responding in adult female mice. *Science* 220: 437-438.
- Hayes, R. A., B. J. Richardson and S. G. Wyllie (2001). Increased social dominance in male rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, is associated with increased secretion of 2-phenoxy ethanol from the chin gland *Chemical Signals in Vertebrates*. A. Marchlewska-Koj, J. J. Lepri and D. Müller-Schwarze. New York, Plenum Press. 9: 335-341.
- Hayes, R. A., B. J. Richardson and S. G. Wyllie (2003). To fix or not to fix: the role of 2-phenoxyethanol in rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, chin gland secretion. *Journal of Chemical Ecology* 29: 1051-1064.
- Heape, W. (1905). Ovulation and degeneration of ova in the rabbit. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 509: 260-268.
- Hedricks, C. and M. K. McClintock (1990). Timing of insemination is correlated with the secondary sex ratio of Norway rats. *Physiology & Behavior* 48: 625-632.
- Hernandez-Tristan, R., C. Arevalo and S. Canals (1999). Effect of prenatal uterine position on male and female rats sexual behavior. *Physiology & Behavior* 67: 401-408.
- Herrenkohl, L. R. (1979). Prenatal stress reduces fertility and fecundity in female offspring. *Science* 206: 1097-1099.

- Heymann, E. W. (2006). Scent marking strategies of New World primates. *American Journal of Primatology* 68: 650-661.
- Hirlemann, S., J. F. Spetz, M. Haug, P. F. Brain and S. Parmigiani (1990). Prior intrauterine position of lactating mice: Effects on attackability by adult resident females. *Bolletino di Zoologia* 57: 67-71.
- Hoepfner, B. A. and I. L. Ward (1988). Prenatal and neonatal androgen exposure interact to affect sexual differentiation in female rats. *Behavioral Neuroscience* 102: 61-65.
- Hotchkiss, A. K., C. S. Lambricht, J. S. Ostby, L. Parks-Saldutti, J. G. Vandenberg and L. E. J. Gray (2007). Prenatal testosterone exposure permanently masculinizes anogenital distance, nipple development, and reproductive tract morphology in female Sprague-Dawley rats. *Toxicological Sciences* 96: 335-345.
- Hotchkiss, A. K., J. S. Ostby, J. G. Vandenberg and L. E. J. Gray (2002). Androgens and environmental antiandrogens affect reproductive development and play behavior in the Sprague-Dawley rat. *Environmental Health Perspectives* 110: 435-439.
- Hotchkiss, A. K. and J. G. Vandenberg (2005). The anogenital distance index of mice (*Mus musculus domesticus*): an analysis. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 44: 46-48.
- Houtsmuller, E. J., F. H. De Jong, D. L. Rowland and A. K. Slob (1995). Plasma testosterone in fetal rats and their mothers on day 19 of gestation. *Physiology & Behavior* 57: 495-499.
- Houtsmuller, E. J. and A. K. Slob (1990). Masculinization and defeminization of female rats by males located caudally in the uterus. *Physiology & Behavior* 48: 555-560.
- Huck, U. W., J. Seger and R. D. Lisk (1990). Litter sex ratios in the golden hamster vary with time of mating and litter size and are not binomially distributed. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 26: 99-109.
- Hudson, R. (1985). Do newborn rabbits learn the odor stimuli releasing nipple-search behavior? *Developmental Psychobiology* 18: 575-585.
- Hudson, R. and H. Distel (1986). Pheromonal release of suckling in rabbits does not depend on the vomeronasal organ. *Physiology & Behavior* 37: 123-128.
- Hudson, R., G. González-Mariscal and C. Beyer (1990). Chin marking behavior, sexual receptivity, and pheromone emission in steroid-treated, ovariectomized rabbits. *Hormones and Behavior* 24: 1-13.
- Hudson, R., B. Schaal and A. Bilko (1999). Transmission of olfactory information from mother to young in the European rabbit. *Mammalian social learning: comparative and ecological perspectives*. H. O. Box and K. R. Gibson. Cambridge, Cambridge University Press: 141-157.
- Hudson, R. and T. Vodermayr (1992). Spontaneous and odour-induced chin marking in domestic female rabbits. *Animal Behaviour* 43: 329-336.
- Hughes, W. (1929). The freemartin condition in swine. *The Anatomical Record* 41: 213-245.
- Hunter, J. F. R. S. (1779). Account of the Free Martin. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 69: 279-293.
- Hurd, P. L., A. A. Bailey, P. A. Gongal, R. H. Yan, J. J. Greer and S. Pagliardini (2008). Intrauterine position effects on anogenital distance and digit ratio in male and female mice. *Archives of Sexual Behavior* 37: 9-18.
- Ibsen, H. L. (1928). Prenatal growth in guinea-pigs with special reference to environmental factors affecting weight at birth. *Journal of Experimental Zoology* 51: 51-93.
- Ilbery, P. L. T. and D. Williams (1967). Evidence of the freemartin condition in the goat. *Cytogenetic and Genome Research* 6: 276-285.
- Ims, R. A. (1989). Kinship and origin effects on dispersal and space sharing in *Clethrionomys rufocanus*. *Ecology* 70: 607-616.

- Inc., S. (2007). STATISTICA (data analysis software system). Tulsa, Oklahoma, StatSoft Inc.
- Insel, T. R. and L. J. Young (2001). The neurobiology of attachment. *Nature Reviews Neuroscience* 2: 129-136.
- Ivanova, E. A. (1978). Testosterone-1 alpha, 2 alpha-3H(n) absorption by target organ tissues in rabbit embryos in vitro. *Ontogenez* 9: 627-632.
- Ivanova, E. A. (1981). Absorption of 1 alpha, 2 alpha-3H(n)-testosterone and 4-140-estradiol by reproductive tract primordia of rabbit embryos in vitro. *Biulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsiny* 91: 218-219.
- James, W. H. (1996). Evidence that mammalian sex ratios at birth are partially controlled by parental hormone levels at the time of conception. *Journal of Theoretical Biology* 180: 271-286.
- Jarcho, J. (1946). Malformations of the uterus: Review of the subject, including embryology, comparative anatomy, diagnosis and report of cases. *The American Journal of Surgery* 71: 106-166.
- Johnson, R. P. (1973). Scent marking in mammals. *Animal Behaviour* 21: 521-535.
- Johnston, R. E. (1979). Olfactory preferences, scent marking, and "proceptivity" in female hamsters *Hormones and Behavior* 13: 21-39.
- Johnston, R. E. and D. M. Leslie Jr (2003). Chemical communication in rodents: from pheromones to individual recognition. *Journal of Mammalogy* 84: 1141-1162.
- Jost, A. (1972). A new look at the mechanisms controlling sex differentiation in mammals. *Johns Hopkins Medical Journal* 130: 38-53.
- Jost, P. A. (1947). Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III. Rôle des gonades foetales dans la différenciation sexuelle somatique. *Archives Anatomie Microscopique Morphologie Expérimentale* 36: 271-315.
- Juárez, J., M. Corsi-Cabrerac and I. del Río-Portillab (1995). Effects of prenatal testosterone treatment on sex differences in the EEG activity of the rat. *Brain Research* 694: 21-28.
- Kerin, T. K., G. P. Vogler, D. A. Blizard, J. T. Stout, G. E. McClearn and J. G. Vandenbergh (2003). Anogenital distance measured at weaning is correlated with measures of blood chemistry and behaviors in 450-day-old female mice. *Physiology & Behavior* 78: 697-702.
- Ketterson, E. D. and J. Nolan V. (1992). Hormones and life histories: an integrative approach. *The American Naturalist* 140: 33-62.
- Kinsley, C., J. L. Miele, C. Konen, L. Ghiraldi and B. Svare (1986a). Intrauterine contiguity influences regulatory activity in adult female and male mice. *Hormones and Behavior* 20: 7-12.
- Kinsley, C. and B. Svare (1988). Prenatal stress alters maternal aggression in mice. *Physiology & Behavior* 42: 7-13.
- Kinsley, C. H., C. M. Konen, J. L. Miele, L. Ghiraldi and B. Svare (1986). Intrauterine position modulates maternal behaviors in female mice. *Physiology & Behavior* 36: 793-799.
- Kinsley, C. H., J. L. Miele, C. K. Wagner, L. Ghiraldi, J. Broida and B. Svare (1986b). Prior intrauterine position influences body weight in male and female mice. *Hormones and Behavior* 20: 201-211.
- Kohli, K. L. and M. H. Ferkin (1999). Over-marking and adjacent marking are influenced by sibship in male prairie voles, *Microtus ochrogaster*. *Ethology* 105: 1-11.
- Kolb, H. H. (1985). The burrow structure of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.). *Journal of Zoology* 206: 253-262.
- Kondo, T., J. Zákány, J. W. Innis and D. Duboule (1997). Of fingers, toes and penises. *Nature* 390: 29-29.

- Krackow, S. (1990). Sex-specific embryonic mortality during concurrent pregnancy and lactation in house mice. *Journal of Experimental Zoology, Part A: Comparative Experimental Biology* 256: 106-112.
- Krackow, S. (1992). Sex ratio manipulation in wild house mice: the effect of fetal resorption in relation to the mode of reproduction. *Biology of Reproduction* 47: 541-548.
- Krackow, S. (1995). The developmental asynchrony hypothesis for sex ratio manipulation. *Journal of Theoretical Biology* 176: 273-280.
- Krackow, S. and P. S. Burgoyne (1997). Timing of mating, developmental asynchrony and the sex ratio in mice. *Physiology & Behavior* 63: 81-84.
- Krohmer, R. W. and M. J. Baum (1989). Effect of sex, intrauterine position and androgen manipulation on the development of brain aromatase activity in fetal ferrets. *Journal of Neuroendocrinology* 1: 265-271.
- Kršková, L. and A. Talarovičová (2005). Influence of maternal testosterone on the strategies in the open field behaviour of rats. *Neuroendocrinology Letters* 26: 121-124.
- Kurzrock, E. A., P. Jegatheesan, G. R. Cunha and L. S. Baskin (2000). Urethral development in the fetal rabbit and induction of hypospadias: a model for human development. *The Journal of Urology* 164: 1786-1792.
- Lebas, F. (1982). Influence de la position in utero sur le développement corporel des lapereaux. 3èmes Journées de la Recherche Cunicole. France, Paris.
- Leoni, B., L. Canova and N. Saino (2005). Sexual dimorphism in metapodial and phalanges length ratios in the wood mouse. *The Anatomical Record, Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 286: 955-961.
- Lillie, F. R. (1916). The theory of the free-martin. *Science* 43: 611-613.
- Lillie, F. R. (1917). The free martin; a study of the action of sex hormones in the foetal life of cattle. *Journal of Experimental Zoology* 23: 371-452.
- Loehlin, J. C. and N. G. Martin (1998). A comparison of adult female twins from opposite-sex and same-sex pairs on variables related to reproduction. *Behavior Genetics* 28: 21-27.
- Lummaa, V., J. E. Pettay and A. F. Russell (2007). Male twins reduce fitness of female co-twins in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 10915-10920.
- Lyne, A. G., G. S. Molyneux, R. Mykytowycz and P. F. Parakkal (1964). The development, structure, and function of the submandibular cutaneous (chin) glands in the rabbit. *Australian Journal of Zoology* 12: 340-348.
- MacLusky, N. J. and F. Naftolin (1981). Sexual differentiation of the central nervous system. *Science* 211: 1294-1303.
- Mann, M. A. and B. Svare (1983). Prenatal testosterone exposure elevates maternal aggression in mice. *Physiology & Behavior* 30: 503-507.
- Manning, J. T., S. Martin, R. L. Trivers and M. Soler (2002). 2nd to 4th digit ratio and offspring sex ratio. *Journal of theoretical biology* 217: 93-95.
- Manning, J. T., D. Scutt, J. Wilson and D. I. Lewis-Jones (1998). The ratio of 2nd to 4th digit length: a predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing hormone and oestrogen. *Human Reproduction* 13: 3000-3004.
- Manno III, F. A. M. (2008). Measurement of the digit lengths and the anogenital distance in mice. *Physiology & Behavior* 93: 364-368.
- Martinez-Gomez, M., M. Guarneros, R. Zempoalteca and R. Hudson (1997). A comparison of spontaneous and odor-induced chin marking in male and female domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus domestica*). *Ethology* 103: 893-901.
- McDermott, N. J., R. Gandelman and J. M. Reinisch (1978). Contiguity to male fetuses influences ano-genital distance and time of vaginal opening in mice. *Physiology & Behavior* 20: 661-663.

- McFadden, D. (1993). A masculinizing effect on the auditory systems of human females having male co-twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90: 11900-11904.
- McFadden, D. and M. S. Bracht (2003). The relative lengths and weights of metacarpals and metatarsals in baboons (*Papio hamadryas*). *Hormones and Behavior* 43: 347-355.
- McFadden, D. and M. S. Bracht (2005). Sex differences in the relative lengths of metacarpals and metatarsals in gorillas and chimpanzees. *Hormones and Behavior* 47: 99-111.
- McIntyre, B. S., N. J. Barlow and F. P. M. D. (2001). Androgen-mediated development in male rat offspring exposed to flutamide in utero: permanence and correlation of early postnatal changes in anogenital distance and nipple retention with malformations in androgen-dependent tissues. *Toxicological Sciences* 62: 236-249.
- McIntyre, M. H. (2006). The use of digit ratios as markers for perinatal androgen action. *Reproductive Biology and Endocrinology* 4: 1-9.
- McIntyre, M. H., E. Herrmann, V. Wobber, M. Halbwax, C. Mohamba, N. De Sousa, R. Atencia, D. Cox and B. Hare (2009). Bonobos have a more human-like second-to-fourth finger length ratio (2D: 4D) than chimpanzees: a hypothesized indication of lower prenatal androgens. *Journal of Human Evolution* 56: 361-365.
- McLaren, A. (1965). Genetic and environmental effects on foetal and placental growth in mice. *Journal of Reproduction and Fertility* 9: 79-98.
- McLaren, A. and D. Michie (1959). Experimental studies on placental fusion in mice. *Journal of Experimental Zoology* 141: 47-73.
- McNitt, J. I. and L. Moody (1989). The use of vulva color as a breeding tool in the rabbitry. *Journal of Applied Rabbit Research* 12: 33-35.
- Medland, S. E., J. C. Loehlin and N. G. Martin (2008). No effects of prenatal hormone transfer on digit ratio in a large sample of same-and opposite-sex dizygotic twins. *Personality and Individual Differences* 44: 1225-1234.
- Meikle, D. B., L. C. Drickamer, S. H. Vessey, T. L. Rosenthal and K. S. Fitzgerald (1993). Maternal dominance rank and secondary sex ratio in domestic swine. *Animal Behaviour* 46: 79-85.
- Meisel, R. L. and I. L. Ward (1981). Fetal female rats are masculinized by male littermates located caudally in the uterus. *Science* 213: 239-242.
- Mendiola, J., R. W. Stahlhut, N. Jørgensen, F. Liu and S. H. Swan (2011). Shorter anogenital distance predicts poorer semen quality in young men in Rochester, New York. *Environmental Health Perspectives* 119: 958-963.
- Michael, R. P. and E. B. Keverne (1968). Pheromones in the communication of sexual status in primates. *Nature* 218: 746-749.
- Miller, E. M. (1994). Prenatal sex hormone transfer: a reason to study opposite-sex twins. *Personality and Individual Differences* 17: 511-529.
- Miller, E. M. and N. Martin (1995). Analysis of the effect of hormones on opposite-sex twin attitudes. *Acta Geneticae Medicae et Gemellologiae* 44: 41-52.
- Monclús, R. and D. T. Blumstein (2012). Litter sex composition affects life-history traits in yellow-bellied marmots. *Journal of Animal Ecology* 81: 80-86.
- Moody, L. and J. I. McNitt (1988). Vulva color in rabbits as indicator of probable reproductive performance. *Journal of Animal Science* 66: 67.
- Moore, C. L. (1984). Maternal contributions to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Developmental Psychobiology* 17: 347-356.
- Mortlock, D. P. and J. W. Innis (1997). Mutation of HOXA13 in hand-foot-genital syndrome. *Nature genetics* 15: 179-180.
- Moss, R. and A. Watson (1980). Inherit changes in the aggressive behavior of a fluctuating red grouse (*lagopus lagopus scoticus*) population. *Ardea* 68: 113-119.

- Muciño, E., A. Bautista, I. Jiménez, M. Martínez-Gómez and R. Hudson (2009). Differential development of body equilibrium among littermates in the newborn rabbit. *Developmental Psychobiology* 51: 24-33.
- Mugford, R. A. and N. W. Nowell (1971). The preputial glands as a source of aggression-promoting odors in mice. *Physiology & Behavior* 6: 247-249.
- Myers, J. H. (1978). Sex ratio adjustment under food stress: maximization of quality or numbers of offspring? *The American Naturalist* 112: 381-388.
- Mykytowycz, R. (1962). Territorial function of chin gland secretion in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Nature* 193: 799
- Mykytowycz, R. (1965). Further observations on the territorial function and histology of the submandibular (chin) glands in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Animal Behaviour* 13: 400-412.
- Mykytowycz, R. (1968). Territorial marking by rabbits. *Scientific American* 218: 116-126.
- Mykytowycz, R. (1970). The role of skin glands in mammalian communication. *Advances in Chemoreception*. J. W. Johnston, D. G. Moulton and A. Turk. New York, Appleton Century Crofts. 1: 327-360.
- Mykytowycz, R. and M. L. Dudzinski (1966). A study on the weight of odoriferous and other glands in relation to the social status and degree of sexual activity in the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *CSIRO Wildlife Research* 11: 3-47.
- Mykytowycz, R. and B. S. Goodrich (1974). Skin glands as organs of communication in mammals. *Journal of Investigative Dermatology* 62: 124-131.
- Mykytowycz, R., E. R. Hesterman, S. Gambale and M. L. Dudzinski (1976). A comparison of the effectiveness of the odors of rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, in enhancing territorial confidence. *Journal of Chemical Ecology* 2: 13-24.
- Neave, N., S. Laing, B. Fink and J. T. Manning (2003). Second to fourth digit ratio, testosterone and perceived male dominance. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 270: 2167-2172.
- Palanza, P., S. Morley-Fletcher and G. Laviola (2001). Novelty seeking in periadolescent mice: sex differences and influence of intrauterine position. *Physiology & Behavior* 72: 255-262.
- Palanza, P., S. Parmigiani and F. S. vom Saal (1995). Urine marking and maternal aggression of wild female mice in relation to anogenital distance at birth. *Physiology & Behavior* 58: 827-835.
- Pálos, J., Z. Szendrő and K. Kustos (1996). The effect of number and position of embryos in the uterine horns on their weight at 30 days of pregnancy. 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France.
- Peper, J. S., R. M. Brouwer, G. C. M. Van Baal, H. G. Schnack, M. Van Leeuwen, D. I. Boomsma, R. S. Kahn and H. E. Hulshoff Pol (2009). Does having a twin brother make for a bigger brain? *European Journal of Endocrinology* 160: 739-746.
- Perakis, A. and F. Stylianopoulou (1986). Effects of a prenatal androgen peak on rat-brain sexual-differentiation. *Journal of Endocrinology* 108: 281-285.
- Perrigo, G. and F. H. Bronson (1985). Sex differences in the energy allocation strategies of house mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 17: 297-302.
- Phelps, V. R. (1952). Relative index finger length as a sex-influenced trait in man. *American Journal of Human Genetics* 4: 72-89.
- Phoenix, C. H., R. W. Goy, A. A. Gerall and W. C. Young (1959). Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissue mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology* 65: 369-382.

- Pratt, N. C. and R. D. Lisk (1989). Effects of social stress during early pregnancy on litter size and sex ratio in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Journal of Reproduction and Fertility* 87: 763-769.
- Pursley, R. J., R. W. Silcox and M. C. Wiltbank (1998). Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81: 2139-2144.
- Quadagno, D. M., C. McQuitty, J. McKee, L. Koelliker, G. Wolfe and D. C. Johnson (1987). The effects of intrauterine position on competition and behavior in the mouse. *Physiology & Behavior* 41: 639-642.
- Ralls, K. (1971). Mammalian scent marking. *Science* 171: 443-449.
- Rekiel, A., J. Więcek, M. Wojtasik, J. Ptak, T. Blicharski and L. Mroczo (2012). Effect of Sex Ratio in the Litter in Which Polish Large White and Polish Landrace Sows were Born on the Number of Piglets Born and Reared. *Annals of Animal Science* 12: 179-185.
- Resnick, S. M., I. I. Gottesman and M. McGue (1993). Sensation seeking in opposite-sex twins: An effect of prenatal hormones? *Behavior Genetics* 23: 323-329.
- Rhees, R. W., B. A. Kirk, S. Sephton and E. D. Lephart (1997). Effects of prenatal testosterone on sexual behavior, reproductive morphology and LH secretion in the female rat. *Developmental Neuroscience* 19: 430-437.
- Richmond, G. and B. D. Sachs (1984). Further evidence for masculinization of female rats by males located caudally in utero. *Hormones and Behavior* 18: 484-490.
- Rines, J. P. and F. S. vom Saal (1984). Fetal effects on sexual behavior and aggression in young and old female mice treated with estrogen and testosterone. *Hormones and Behavior* 18: 117-129.
- Robbins, W. A., F. Wei, D. A. Elashoff, G. Wu, L. Xun and J. Jia (2008). Y: X sperm ratio in boron-exposed men. *Journal of Andrology* 29: 115-121.
- Roberts, J. A. F. and A. W. Greenwood (1928). An extreme Free-Martin and a Free-Martin-like condition in the sheep. *Journal of Anatomy* 63: 87-94.
- Rohde Parfet, K. A., V. K. Ganjam, W. R. Lamberson, A. R. Rieke, F. S. V. Saal and B. N. Day (1990). Intrauterine position effects in female swine: subsequent reproductive performance, social and sexual-behavior. *Applied Animal Behaviour Science* 26: 349-362.
- Rosahn, P. D. and H. S. N. Greene (1936). The influence of intrauterine factors on the fetal weight of rabbits. *The Journal of Experimental Medicine* 63: 901-921.
- Rose, R. J., J. Kaprio, T. Winter, D. M. Dick, R. J. Viken, L. Pulkkinen and M. Koskenvuo (2002). Femininity and fertility in sisters with twin brothers: prenatal androgenization? Cross-sex socialization? *Psychological Science* 13: 263-267.
- Rödel, H. G., A. Bautista, E. García-Torres, M. Martínez-Gómez and R. Hudson (2008). Why do heavy littermates grow better than lighter ones? A study in wild and domestic European rabbits. *Physiology & Behavior* 95: 441-448.
- Rubolini, D., F. Pupin, R. Sacchi, A. Gentili, M. A. L. Zuffi, P. Galeotti and N. Saino (2006). Sexual dimorphism in digit length ratios in two lizard species. *The Anatomical Record, Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 288: 491-497.
- Rutkowska, J., M. Cichon, M. Puerta and D. Gil (2005). Negative effects of elevated testosterone on female fecundity in zebra finches. *Hormones and Behavior* 47: 585-591.
- Ryan, B. C. and J. G. Vandenbergh (2002). Intrauterine position effects. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 26: 665-678.

- Saino, N., D. Rubolini, M. Romano and G. Boncoraglio (2007). Increased egg estradiol concentration feminizes digit ratios of male pheasants (*Phasianus colchicus*). *Naturwissenschaften* 94: 207-212.
- Salazar-Martinez, E., P. Romano-Riquer, E. L. Yanez-Marquez, M. P. Longnecker and M. Hernandez-Avila (2004). Anogenital distance in human male and female newborns: a descriptive, cross-sectional study. *Environmental Health* 3: 1-6.
- Servanty, S., J. M. Gaillard, D. Allainé, S. Brandt and E. Baubet (2007). Litter size and fetal sex ratio adjustment in a highly polytocous species: the wild boar. *Behavioral Ecology* 18: 427-432.
- Sheldon, B. C. and S. A. West (2004). Maternal dominance, maternal condition, and offspring sex ratio in ungulate mammals. *The American Naturalist* 163: 40-54.
- Sherry, D. F., B. G. Galef Jr and M. M. Clark (1996). Sex and intrauterine position influence the size of the gerbil hippocampus. *Physiology & Behavior* 60: 1491-1494.
- Slob, A. K. and P. van der Schoot (1982). Testosterone induced mounting behavior in adult female rats born in litters of different female to male ratios. *Physiology & Behavior* 28: 1007-1010.
- Smail, P. J., F. I. Reyes, J. S. D. Winter and C. Faiman (1981). The fetal hormone environment and its effect on the morphogenesis of the genital system. *Pediatric Andrology*. S. J. Kogan and E. S. E. Hafez. Netherlands, The Hague, Martinus Nijhoff: 9-20.
- Soares, M. J. and M. Diamond (1982). Pregnancy and chin marking in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Animal Behaviour* 30: 941-943.
- SPSS, I. (1998). *SPSS for Windows*. Chicago, Illinois, SPSS, Inc.
- Tandler, J. and K. Keller (1911). Über das Verhalten des Chorions bei verschiedengeschlechtlicher Zwillingsgravidität des Rindes und über die Morphologie des Genitales der weiblichen Tiere, welche einer solchen Gravidität entstammen. *Deutsche Tierärzt Wochenschrift* 19: 148-149.
- Thiessen, D. and M. Rice (1976). Mammalian scent gland marking and social behavior. *Psychological Bulletin* 83: 505-539.
- Thomas, S. A. and B. K. Kaczmarek (2002). Scent-marking behaviour by male prairie voles, *Microtus ochrogaster*, in response to the scent of opposite- and same-sex conspecifics. *Behavioural Processes* 60: 27-33.
- Thomas, S. A. and J. O. Wolff (2002). Scent marking in voles: a reassessment of over marking, counter marking, and self-advertisement. *Ethology* 108: 51-62.
- Thornburg, K. L. and J. J. Faber (1976). The steady state concentration gradients of an electron-dense marker (ferritin) in the three-layered hemochorial placenta of the rabbit. *Journal of Clinical Investigation* 58: 912-925.
- Tobet, S. A., J. L. Dunlap and A. A. Gerall (1982). Influence of fetal position on neonatal androgen-induced sterility and sexual behavior in female rats. *Hormones and Behavior* 16: 251-258.
- Trivers, R. L. and D. E. Willard (1973). Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* 179: 90-92.
- van Anders, S. M., P. A. Vernon and C. J. Wilbur (2006). Finger-length ratios show evidence of prenatal hormone-transfer between opposite-sex twins. *Hormones and Behavior* 49: 315-319.
- van de Poll, N. E., S. M. van der Zwan, H. G. van Oyen and J. H. Pater (1982). Sexual behavior in female rats born in all-female litters. *Behavioural Brain Research* 4: 103-109.

- Vandenbergh, J. G. and C. L. Huggett (1994). Mothers prior intrauterine position affects the sex-ratio of her offspring in House mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 11055-11059.
- Vandenbergh, J. G. and C. L. Huggett (1995). The anogenital distance index, a predictor of the intrauterine position effects on reproduction in female house mice. *Laboratory Animal Science* 45: 567-573.
- Venge, O. (1963). The influence of nursing behaviour and milk production on early growth in rabbits. *Animal Behaviour* 11: 500-506.
- Veysiere, G., M. Berger, C. Jean-Faucher, M. de Turckheim and C. Jean (1976). Levels of testosterone in the plasma, gonads, and adrenals during fetal development of the rabbit. *Endocrinology* 99: 1263-1268.
- Veysi re, G., M. Berger, C. Jean-Faucher, M. de Turckheim and C. Jean (1980). Development of blood testosterone levels in the fetal rabbit during sexual organogenesis. *Comptes Rendus des S ances de l'Académie des Sciences, Série D: Sciences Naturelles* 290: 583-586.
- vom Saal, F. S. (1978). Cyproterone-acetate exposure during gestation in mice retards fetal growth. *Physiology & Behavior* 21: 515-517.
- vom Saal, F. S. (1981). Variation in phenotype due to random intrauterine positioning of male and female fetuses in rodents. *Reproduction* 62: 633-650.
- vom Saal, F. S. (1984). The intrauterine position phenomenon: effects on physiology, aggressive behavior and population dynamics in house mice. *Progress in Clinical and Biological Research* 169: 135-179.
- vom Saal, F. S. (1989). Sexual differentiation in litter-bearing mammals: influence of sex of adjacent fetuses in utero. *Journal of Animal Science* 67: 1824-1840.
- vom Saal, F. S. and F. H. Bronson (1978). In utero proximity of female mouse fetuses to males: effect on reproductive performance during later life. *Biology of Reproduction* 19: 842-853.
- vom Saal, F. S. and F. H. Bronson (1980). Sexual characteristics of adult female mice are correlated with their blood testosterone levels during prenatal development. *Science* 208: 597-599.
- vom Saal, F. S., M. M. Clark, B. G. Galef, Jr. and L. C. Drickamer (1999). Intrauterine position phenomenon. *Encyclopedia of Reproduction*. E. Knobil and J. D. Neill. San Diego, Academic Press. 2: 893-900.
- vom Saal, F. S. and M. G. Dhar (1992). Blood-flow in the uterine loop artery and loop vein is bidirectional in the mouse - implications for transport of steroids between fetuses. *Physiology & Behavior* 52: 163-171.
- vom Saal, F. S. and C. L. Moyer (1985). Prenatal effects on reproductive capacity during aging in female mice. *Biology of Reproduction* 32: 1116-1126.
- vom Saal, F. S., D. M. Quadagno, M. D. Even, L. W. Keisler, D. H. Keisler and S. Khan (1990). Paradoxical effects of maternal stress on fetal steroids and postnatal reproductive traits in female mice from different intrauterine positions. *Biology of Reproduction* 43: 751-761.
- von Holst, D. (1998). The concept of stress and its relevance for animal behavior. *Advances in the Study of Behavior*. P. Slater, A. Moller and M. Manfred. New York, Academic Press. 27: 1-131.
- Wallen, K. and M. J. Baum (2002). Masculinization and defeminization in altricial and precocial mammals: comparative aspects of steroid hormone action. *Hormones, Brain and Behavior* D. W. Pfaff, A. Arnold, A. Etgen, S. Fahrbach and R. Rubin. San Diego, Academic Press. 4: 385-423.

- Walton, A. and J. Hammond (1928). Observations on ovulation in the rabbit. *Journal of Experimental Biology* 6: 190-205.
- Ward, I. L. (1971). Prenatal stress feminizes and demasculinizes the behavior of males. *Science* 175: 82 - 84.
- Ward, I. L. and J. Weisz (1980). Maternal stress alters plasma testosterone in fetal males. *Science* 207: 328-329.
- Webel, S. K. and P. J. Dziuk (1974). Effect of stage of gestation and uterine space on prenatal survival in the pig. *Journal of Animal Science* 38: 960-963.
- Williams, G. C. (1979). The question of adaptive sex ratio in outcrossed vertebrates. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 205: 567-580.
- Williams, M. T., M. B. Hennessy and H. N. Davis (1998). Stress during pregnancy alters offspring morphology and ultrasonic vocalizations. *Physiology & Behavior* 63: 337-344.
- Wise, T., A. Roberts and R. Christenson (1997). Relationships of light and heavy fetuses to uterine position, placental weight, gestational age, and fetal cholesterol concentrations. *Journal of Animal Science* 75: 2197-2207.
- Wise, T. H. and R. K. Christenson (1992). Relationship of fetal position within the uterus to fetal weight, placental weight, testosterone, estrogens, and thymosin beta 4 concentrations at 70 and 104 days of gestation in swine. *Journal of Animal Science* 70: 2787-2793.
- Wolf, C. J., A. Hotchkiss, J. S. Ostby, G. A. LeBlanc and L. E. J. Gray (2002). Effects of prenatal testosterone propionate on the sexual development of male and female rats: A dose-response study. *Toxicological Sciences* 65: 71-86.
- Wolff, J. O., S. G. Mech and S. A. Thomas (2002). Scent marking in female prairie voles: a test of alternative hypotheses. *Ethology* 108: 483-494.
- YoungLai, E. V., C. C. Pan and B. R. Bhavnani (1981). Asymmetric distribution of male and female foetuses in the pregnant rabbit uterus. *Cellular and Molecular Life Sciences* 37: 690-691.
- Zarrow, M. X., V. H. Denenberg and C. A. Anderson (1965). Rabbit: Frequency of suckling in the pup. *Science* 150: 1835-1836.
- Zehr, J. L., S. E. Gans and M. K. McClintock (2001). Variation in reproductive traits is associated with short anogenital distance in female rats. *Developmental Psychobiology* 38: 229-238.
- Zielinski, W. J. and J. G. Vandenberg (1991). Increased survivorship of testosterone-treated female House mice, *Mus musculus*, in high-density field conditions. *Animal Behaviour* 42: 955-967.
- Zielinski, W. J., J. G. Vandenberg and M. M. Montano (1991). Effects of social stress and intrauterine position on sexual phenotype in wild-type House mice (*Mus musculus*). *Physiology & Behavior* 49: 117-123.
- Zielinski, W. J., F. S. vom Saal and J. G. Vandenberg (1992). The effect of intrauterine position on the survival, reproduction and home range size of female house mice (*Mus musculus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30: 185-191.

Összefoglalás

Számos emlősfajnál ismert, hogy a méhben fejlődő nőtényi utódok nem differenciációját – morfológiáját és felnőttkori viselkedését – befolyásolja, hogy magzati fejlődésük adott időszakában milyen és mekkora mennyiségű hormonok érik őket. Többet ellő emlősök esetében a hormonok nem csak az anyától, hanem a szomszédos embrióktól is származhatnak, azok nemétől függően. A szomszédos hím magzatok által termelt tesztoszteron képes átdiffundálni a magzatburkon és a magzatvízen. A prenatális fejlődés alatt a magzatot ért tesztoszteron mennyisége alapvető fontosságú és a hatása hosszú távú. Azok a nőtények, melyek két hím között fejlődnek a méhben (2M-es nőtények), nagyobb mennyiségű tesztoszteronnak vannak kitéve, erőteljesebb maszkulinizációt mutatnak fejlődésük későbbi szakaszaiban, mint azok a nőtények melyeknek csak egy (1M-es nőtények), vagy egyáltalán nincs hím szomszédja (0M-es nőtények). Rágcsálókban a méhben belüli pozíció rövid és hosszú távú hatásai a morfológiára és viselkedésre széles körben diszkutált, így vizsgálatainkban egy, ebből a tekintetből még nem vizsgált rend egyik fajtát, a Lagomorpha rendbe tartozó üreginyulát és annak háziasított formáját, a házinyulát vontuk be.

Disszertációm első vizsgálatában sikeresen igazoltuk, hogy nyulak esetében is létezik a méhben belüli szomszédság hatás: nőtény nyúl esetében, minél több hím szomszédja volt a méhben belül, annál nagyobb lett a gátmérete, mind születéskor, mind felnőttkorban. Továbbá a méhben 2 hím szomszéddal rendelkező nőtények felnőtt korban többet és gyorsabban álljelöltek, mint testvéreik akiknek csak 1 van 0 hím szomszédjuk volt. A méhben belüli hormonkitettség hosszú távú hatásait igazolta továbbá, hogy pozitív korrelációt találtunk a születéskori gátméret és a felnőttkori álljelölési aktivitás között. A méhben belül a magzatok sorrendje is befolyásolhatja az utódok fejlődését: a petefészkekhez legközelebb található magzatok voltak a legnagyobbak, és a méhszájtól a második pozícióban fejlődtek a legkisebbek. A születés előtt az anyának adagolt extra tesztoszteron szintén hatással volt az utódokra, a méhben belüli szomszédság hatásával megegyezően. Ennek hatására a születéskori gátméret megnövekedett, ez a változás t felnőtt korukra is megmarad. A születés előtt extra tesztoszteronnal kezelt nőtények állmirigye nagyobb lett, és emelkedett spontán álljelölési aktivitást mutattak. A következő vizsgálatunk során bizonyítottuk, hogy a gátméretben tapasztalható változatosság a természetben is megfigyelhető a felnőtt üreginyúl nőtények közt. Megállapítottuk, hogy egy nőtény nyúl gátmérete kapcsolatban áll az alom méretével és ivararányával: a nagy gátméretű nőtények kisebb almokat ellettek és ezekben az almokban a nőtények száma lecsökkent. A vizsgálat második lépésében pedig leírtuk, hogy a bakok képesek különbséget tenni a különböző gátméretű nőtények közt. Megállapítottuk, hogy egy álljelleik alapján, és olyan nőtényeket preferálnak, melyeknek szaporodási kapacitása magasabb társaiknál.

Összefoglalva elmondható, hogy a méhben belüli pozíció sokrétűen befolyásolhatja a nyulak anatómiai fejlődését és felnőttkori viselkedését, vagyis egy magzat prenatális környezetét jól tükrözi a gátmérete és az álljelölési aktivitása. Eredményeink valószínűsítik, hogy a méhben belüli pozíció hatásainak élettani alapjai széles körben megegyezhetnek a különböző emlős taxonokban. A születés előtt a magzatot ért hormonoknak hosszú távú hatásai lehetnek, befolyásolhatják párválasztását és ezáltal hatással lehetnek az egész populáció dinamikájára is.

Abstract

Sexual differentiation – morphology and behavior – of a female offspring is known to be affected in utero by different types and amounts of steroid hormones in mammals. In litter-bearing species these hormones may originate not only from the mother, but also from neighboring embryos, depending on their sexes. Testosterone produced by the adjacent male fetuses is able to diffuse through the amniotic fluid and fetal membranes. The amount of testosterone reaching the fetus during the prenatal development is essential and has a long-term effect. Females developing between two male adjacent littermates in utero (2M female) are exposed to a larger amount of testosterone and show stronger masculinization than those with one or no adjacent males (1M and 0M females). In rodents, the short and long term effects of intrauterine position on the morphology and behavior is widely discussed. The aim of the present dissertation was to test whether this phenomenon and its consequences exists in Lagomorphs, especially in wild type rabbits and in its domesticated forms.

In my first study we successfully confirmed that the intrauterine position effect also exists in case of rabbits. Our results revealed that the anogenital distance is a reliable indicator of sex in rabbits, as male pups had larger anogenital distance than females, both at birth and later on. Adjacent male fetuses had significant effect on the sexual differentiation: females with more adjacent male fetuses had elongated anogenital distance. Anogenital distance at birth was a good predictor of the adult's anogenital distance and behavior, as does with two male in-utero neighbors had the longest anogenital distance and they showed the highest chin marking activity among females. The order of fetuses in utero may influence the weight gain of the offspring: the heaviest fetuses were located closest to the ovaries and the lightest developed in the second position from the cervix.

By administering different doses of testosterone to pregnant rabbits and following anatomical and behavioral development of their female offspring, we obtained dose-dependent impacts both at birth and in adulthood. We found increased anogenital distance, chin gland size and chin-marking behavior of prenatal testosterone-exposed females. The effects of the treatment corresponded with the variation due to intrauterine position found in the previous study, where exposure to testosterone of known external origin resulted in similar tendencies of masculinization in rabbit females as the in utero proximity to male siblings. During the next study, we demonstrated that the observed variability of the anogenital distance can be observed among wild type rabbit females. The results revealed that does with large anogenital distance have significantly smaller and lighter litters with a male biased sex ratio in it; and this outcome originated from fewer females but not more males born to these litters. The second aim of this study was to test whether males discriminate between females differing in their anogenital distance and are thus capable of choosing the more fertile and fecund does. Males showed a stronger response to the chin marks of females with small anogenital distance than to the marks of females with large anogenital distance in a discrimination test.

We concluded that, similarly to rodents, proximity to males in utero affects both anatomy and behavior in rabbits. Our results indicate that the intrauterine position effects may have similar physiological bases across different mammalian taxa including Lagomorphs. We suggest that variation in the prenatal hormonal environment, reflected through variation in anogenital distance and chin marking behavior, could have long-term consequences on mate choice and population dynamics.

