

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Az inzulin-szerű növekedési faktor-1 szerepe a  
barkóscinege életmenet döntéseiben**

Tóth Zsófia

Témavezető: Dr. Lendvai Ádám Zoltán



DEBRECENI EGYETEM  
Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

Debrecen, 2023



## I. Bevezetés és célkitűzések

Az életmenet evolúció az evolúcióbiológia egyik területe, melynek célja, hogy az életmenetben található nagymértékű változatosság kialakulásának okait és ennek következményeit vizsgálja (Flatt és Heyland, 2011; Stearns, 1993). Az életmenet elmélet azokat a geno- és fenotípusos tulajdonságokat (életmenet tulajdonságok) vizsgálja, melyek meghatározzák az élőlények túlélését és szaporodási sikerét (Flatt és Hayland, 2011). A leggyakrabban vizsgált életmenet tulajdonságok a következők: születéskori méret, a szexuális érettség kora, az utódok száma, mérete és ivararánya, élethossz. Az evolúció során ezekben a tulajdonságokban nagy változatosság alakult ki nem csak a fajok között, hanem fajon belül is, annak érdekében, hogy adott környezeti körülmények között minél magasabb fitnesszt (relatív szaporodási siker) érjenek el (Stearns, 2000). A források korlátozott elérhetősége forrás elosztási dilemmához vezet a jelenlegi- és a jövőben szaporodás, illetve a túlélés között. Ennek következtében kialakul egy energetikai csereviszony az életmenet tulajdonságok között, ami sokszor negatív fenotípusos kapcsolathoz vezet (Roff és Fairbairn, 2007; Stearns, 1989; Zera és Harshman, 2001).

Az egyik legmaghatározóbb ilyen kapcsolat a szaporodás és az élethossz között található negatív csereviszony, melyet a „szaporodás árának” hívnak (Williams, 1966). Hagyományosan úgy gondolták, hogy a csere-viszonyokat a források és a belső energia raktárak végeessége okozza. Későbbi vizsgálatokban rávilágítottak arra, hogy a csereviszonyok mögött nem feltétlenül a véges forrás

elérhetőség, hanem a több tulajdonságot is befolyásolni képes fiziológiai szabályozó mechanizmusok állhatnak (Leroi, 2001). Mivel a hormonok egyszerre több tulajdonságot is befolyásolnak (pleiotrópia), ezért az életmenet tulajdonságok (pl.: élethossz és szaporodás) közötti csereviszonyok kulcsfontosságú szabályozói lehetnek (Martin és mtsai., 2011; Wingfield és mtsai., 1998). A hormonok a külső-, és belső környezetből érkező ingerek hatására alakítják ki a leghatékonyabb válaszreakciót a fennálló környezeti körülményekre (Zera és Harshman, 2001). Habár több jelátviteli útnak szerepe van a fenotípus kialakításában, ebben a disszertációban az inzulin-szerű növekedési faktor-1 (IGF-1) életmenet döntésekben betöltött szerepét tárgyalom egy énekesmadár, a barkóscinege *Panurus biarmicus* esetén.

Az életmenet csereviszonyokat meghatározó jelátviteli utaknak képesnek kell lennie a környezetből érkező információk fogadására és azok továbbítására a szervezet megfelelő központjai felé, hogy az egyedek a megváltozott környezeti körülményekre a legmegfelelőbb módon tudjanak reagálni (Harshman és Zera, 2007). Az egyik lehetséges módszer annak tesztelésére, hogy az adott jelátviteli útnak van-e ilyen szabályozó funkciója az, ha az egyedeket stressz hatásának tesszük ki. A stresszhatások könnyen standardizálhatóak, és az ezekre adott válasz ökológiai szempontból releváns, hiszen a fitness maximalizálása érdekében minden szervezetnek képesnek kell lennie arra, hogy megbirkózzon a hirtelen környezeti változásokkal, mint például a ragadozó támadással, a kedvezőtlen időjárással vagy a táplálékhiánnyal (Hawlena és Schmitz, 2010; Romero és mtsai., 2000; Wingfield és mtsai., 1998). Korábban kimutatták,

hogy az IGF-1 szintje csökken fogvatartási stressz esetén sertésekben (Wirthgen és mtsai., 2017) és halakban (Davis és Peterson, 2006; Wilkinson és mtsai., 2006). ami arra utal, hogy az IGF-1 fontos szabályozója lehet a stressz válasz kialakításának. Azonban az nem egyértelmű, hogy az IGF-1 szintjének változását a gerincesek stressz válaszában egyik fő hormonális mediátorai, a glükokortikoidok vagy maga a stresszor közvetlenül okozza (Davis és Peterson, 2006). A mesterségesen megemelt glükokortikoid szint csökkenti az IGF-1 szintet baromfiban (Leili és Scanes, 1998), halakban (Kajimura és mtsai., 2003; Peterson és Small, 2005) és patkányokban (Gayan-Ramirez és mtsai., 1999), de ez a hatás csak magas glükokortikoid koncentráció vagy hosszan tartó glükokortikoid expozíció esetén mutatható ki (Bossis és Porter, 2003; Davis és Peterson, 2006; Kajimura és mtsai., 2003). Az IGF-1 stresszválasz kialakításában betöltött szerepét, és a glükokortikoidok és IGF-1 közötti kapcsolatot természetes populációkban eddig nem vizsgálták. Ezért doktori munkám első vizsgálatában arra kerestük a választ, hogy a **befogási stressz hatással van-e az IGF-1 szintre, és hogy az IGF-1 a kortikoszterontól (glükokortikoid hormon) függetlenül befolyásolja-e a fiziológiai stresszválaszt.**

A táplálékhiány az egyik leggyakoribb stresszor, mellyel szinte minden élőlénynek szembe kell néznie az élete során. Ezért a tápanyagérzékelésben szerepet játszó fiziológiai mechanizmusok kulcsszerepet játszhatnak az életmenet tulajdonságok közötti energia elosztásban. Habár korábbi vizsgálatokból tudjuk, hogy a táplálékélelérhetőség hatással van az IGF-1 szintre (Berryman és mtsai., 2008), ismereteink hiányosak azzal kapcsolatban, hogy az IGF-1 hogyan reagál a

táplálékelérhetőség megváltozására természetes populációkban (Duncan és mtsai., 2015; Sparkman és mtsai., 2010). Ezért a doktori munkám második vizsgálatában arra kerestük a választ, hogy **az IGF-1 hogyan reagál a táplálékelérhetőség ingadozására egy természetes populációban.**

Az IGF-1 negatív kapcsolatban áll az élethosszal (Holzenberger és mtsai., 2003; Lewin és mtsai., 2017), de pozitív hatással van a növekedésre, és a szaporodásra (Crain és mtsai., 1995; Lewin és mtsai., 2017; Sparkman és mtsai., 2010; Swanson és Dantzer, 2014). Annak ellenére, hogy tudjuk, az IGF-1 ellentétes hatást fejt ki a különböző életmenet tulajdonságokra (pl.: az élethosszra és a szaporodásra), nem ismerjük a pontos mechanizmusát annak, hogy az IGF-1 hogyan szabályozza ezt a csereviszonyt. Egy hipotézis szerint, az IGF-1 megnöveli a reaktív oxigén gyökök (ROS) mennyiségét a vérben és ezáltal oxidatív károsodást okoz, melynek negatív hatása van a maximális élethosszra (Dantzer és Swanson, 2012, Vágási és mtsai., 2020). Korábban ezt a hipotézist természetes nem vizsgálták, ezért a doktori munkám harmadik vizsgálatában arra kerestük a választ, hogy **az IGF-1 valóban növeli-e az oxidatív károsodás (malondialdehid, MDA szintjét - lipidek oxidatív károsodása) mértékét, és hogy az IGF-1 által megnövelt oxidatív károsodás befolyásolja-e a mortalitási valószínűséget.**

A vedlés, mint növekedési folyamat, egy kulcsfontosságú életmenet állapot számos állatcsoport esetén, mint például a hüllők és a madarak. A vedlés egy energia igényes folyamat, mely madarak esetén kiemelkedően fontos, mivel a tollaknak kulcsfontosságú szerepe van a

repülésben, a szigetelésben és az egyedek közötti kommunikációban is. Az egyetlen természetes populációban végzett vizsgálatban azt találták, hogy az IGF-1 szintje magasabb a vedlésben lévő *Tamnophis elegans* siklófaj esetén összehasonlítva a nem vedlő társaikkal (Sparkman és mtsai., 2009). Továbbá, az egyetlen madarakon (broiler tyúkokon) végzett vizsgálat azt mutatta, hogy azoknak az egyedeknek, melyek stressz által beindított vedlési állapotban vannak, magasabb az IGF-1 szintje, mint a nem vedlő társaiké (Mazzuco és mtsai., 2005). Habár az IGF-1-nek látszólag fontos szerepe van a vedlés szabályozásában, az IGF-1 tollnövekedésben betöltött szerepe ismeretlen. Ezért a doktori munkám negyedik vizsgálatában arra kerestük a választ, **hogy a kísérletileg megemelt IGF-1 szint befolyásolja-e a tollak növekedési sebességét, a vedlés intenzitását és a tollak minőségét.** A vedlés, azonban nem csak a repüléshez és a szigeteléshez szükséges tollak lecserélődéséhez szükséges, hanem a párválasztásban fontos színezet kialakulásához is. Ezért a doktori munkám ötödik vizsgálatában arra kerestük a választ, **hogy az IGF-1 kapcsolatban áll-e a színezet és a dísztollak kialakulásával barkóscinegékben.**

## **II. Anyag és módszerek**

### **1. Tanulmány**

2015 szeptembere és 2016 januárja között 17 teelő, szabadon élő barkóscinege esetén vizsgáltuk a kezelési stressz hatását az IGF-1 szintre. A vizsgálathoz hagyományos fogás-fogvatartás módszert használtunk, melynek során az első vérmintát ("alap") az egyed hálóba esését követő leghamarabb vettük, majd a második vérmintát ("stressz") a hálóba esést követő 15. percben.

A vizsgálat második felében 21 barkóscinegét fogtunk be október 18 és november 16 között, majd szállítottunk egy kültéri röpdébe, ahol 4 hónapot töltöttek akklimatizációval az egyedek. A vizsgálat megkezdése előtt a madarakat külön-külön kalitkákba helyeztük el, majd a kortikoszteron szintjüket egy nem invazív, orális módszerrel manipuláltuk: kortikoszteron nélküli (kontroll), alacsony (0,2 mg/ml) vagy magas (0,5 mg/ml) kortikoszteron koncentrációjú oldattal töltött lisztkekacok segítségével. Minden madarat beosztottunk a kezelési csoportok valamelyikébe, majd a madaraknak a ketrec hátsó ajtaján található nyíláson keresztül adtuk be a kezelési csoportjuknak megfelelő kortikoszteron koncentrációval töltött lisztkekacot. 15 perccel azután, hogy a madarak elfogyasztották a lisztkekacot, vért vettünk a madaraktól. Az eljárást megismételtük, melynek során minden madarat más kezelési csoportba osztottunk be.

Az IGF-1 szintjét enzim kötött immunszorbens esszé (ELISA), míg a kortikoszteron szintjét radioimmunesszé (RIA) segítségével mértük minden vizsgálatban.

## **2. Tanulmány**

Hortobágy-Halastavon 2017 júliusában 24 fiatal barkóscinegét fogtunk be. A madarak a vizsgálatot megelőzően 7 hónapot töltöttek röpdében, hogy hozzászokjanak a fogvatartási körülményekhez. A madarakat a kísérlet előtt két héttel befogtuk a röpdéből, és külön-külön kalitkákba helyeztük el őket. Két kezelési csoportot hoztunk létre: kontroll (az egyéni napi táplálékfogyasztás 110%-a) és korlátozott étrend (az egyéni napi táplálékfogyasztás 70%-a). Az egyedek egymás után mindkét kezelést megkapták. Minden kezelés 3 napig tartott, majd egy három napos regenerálódási folyamat után (korlátlan mennyiségű élelem) a vizsgálatot megismételtük. Ez azt jelenti, hogy minden madár kétszer került a kontroll és kétszer a korlátozott étrendre. Minden egyes étrendi kezelés után megmértük a testtömeget és a keringő IGF-1 szintjét.

## **3. Tanulmány**

16 tojó és 25 hím fiatal (ugyanabban az évben kelt) barkóscinegét fogtunk be július 28 és 30 között. A madarakat egy kültéri röpdébe szállítottuk, ahol csoportosan (3-4 egyed egy kalitkában) tartottuk őket. A madarakat beosztottuk valamelyik kezelési csoportba: kontroll (0 ng/mg IGF-1) vagy kezelt (272 ng/mg IGF-1). A madaraktól háromszor vettünk vért, egyszer a manipuláció előtt (0. nap), 24 (1. nap) majd 96 (4. nap) órával később. A manipuláció után a madarakat két kültéri röpdébe helyeztük, ahol további 16 hónapot töltöttek a mortalitási valószínűség nyomonkövetése érdekében.

#### **4. Tanulmány**

Ebben a vizsgálatban a 3. vizsgálatban is résztvevő egyedekkel dolgoztunk. A Jenni és Winkler (2020) által leírt skála alapján meghatároztuk az egyedek vedlési állapotát a kezelés előtt és 15 nappal a kezelés után. Vért vettünk, továbbá lemértük a növekvő tollak hosszát a kezelés előtt, és 1, 4 majd 15 nappal a kezelés után. Miután a madarak befejezték a vedlést, újra befogtuk őket, majd lemértük a szárny-, a farok, és a hímek esetén a barkóhosszt is. Kihúztuk a legbelső faroktollat, majd lemértük annak hosszát, tömegét és szárának átmérőjét, és megszámláltuk a tollnövekedési hibákat (Jovani és Rohwer, 2017; Pap és mtsai., 2008).

#### **5. Tanulmány**

2016 szeptemberében és októberében 42 vedlő barkóscinegét fogtunk be a Fertő-tó nádasában. A befogást, a morfometriai méréseket és a vérvételt követően a madarakat egy természetközeli, szabadtéri röpdében helyeztük el. Minden fogságban tartott madár azonos körülmények között fejezte be a vedlést. Amikor a madarak befejezték a vedlést, lemértük a tollazat UV-krómáját (az UV-tartományban lévő fényvisszaverődés aránya a teljes fényvisszaverődéshez képest) és fényességét egy deutérium-halogénlámpával működő spektrométerrel. Az UV-krómát hímeknél a fejen, az oldalon, a háton és az állon, míg tojóknál az állon, az arcon és a háton mértük le minden testrész esetén háromszor. Ezenkívül mindkét nemnél megmértük a farokhosszt és hímeknél a barkóhosszt.

### **III. Eredmények**

#### **1. Tanulmány**

A terepi vizsgálat során azt találtuk, hogy a kortikoszteron szint szignifikánsan nőtt, míg az IGF-1 szint szignifikánsan csökkent a 15 perces fogvatartási stressz hatására. Továbbá nem találtunk összefüggést az IGF-1 és a kortikoszteron között sem az első mintában, sem az IGF-1 és kortikoszteron szint változás között. A vizsgálat második felében azt találtuk, hogy a kortikoszteronmanipuláció szignifikánsan megemelte a kortikoszteron szintet, de nem volt hatással az IGF-1 szintre.

#### **2. Tanulmány**

Ebben a vizsgálatban azt találtuk, hogy az egyedek testtömege csökkent a táplálék mennyiség csökkentésének hatására, vagyis a kezelésünk sikeres volt. Az IGF-1 szintje pozitív kapcsolatot mutatott a testtömegeg, ami egybecseng korábbi vizsgálatok eredményeivel (Cameron és mtsai., 2007; Crain és mtsai., 1995; Sparkman és mtsai., 2009). A hímeknek magasabb IGF-1 szintje volt, mint a tojóknak, habár ez az összefüggés eltűnt, amikor a testtömegekre kontrolláltunk. Ez arra utal, hogy az IGF-1 szint kondíció- és nem ivar függő.

Általánosságban az IGF-1 szintje nőtt a táplálék mennyiség csökkenésének hatására, viszont jelentős egyedek közötti különbséget találtunk az IGF-1 szint változásában. Az IGF-1 szint egyes egyedekben csökkent, másokban nőtt és voltak olyan egyedek melyekben nem változott jelentős mértékben. Az egyedek közötti jelentős változatosság ellenére, az egyedeken belüli IGF-1 válasz konzisztens volt. Az IGF-1 táplálékmenyiség csökkenésre adott válaszát a

testtömeg is befolyásolta, vagyis az átlagnál nehezebb egyedek nagyobb valószínűséggel csökkentették, míg az átlagnál könnyebb egyedek nagyobb valószínűséggel növelték az IGF-1 szintjüket.

### **3. Tanulmány**

IGF-1 szint nem különbözött a kezelési csoportok között a vizsgálat 0. és 4. napján, de az IGF-1 szint jelentősen magasabb volt a vizsgálat 1. napján. Az IGF-1 és az MDA szint magasabb volt a hímek esetén a vizsgálat kezdetén, mint a tojók esetén. Az IGF-1 manipuláció hímeknél jelentős mértékben megnövelte, míg a tojóknál nem jelentős mértékben csökkentette az MDA szintet a vizsgálat 1. napján, de ez a hatás eltűnt a vizsgálat 4. napjára. Az IGF-1 kezelés nem befolyásolta a mortalitást a következő 16 hónapban, de a kezelés előtti IGF-1 szint pozitív hatással volt a túlélési valószínűségekre hímek esetén. A vizsgálat 4. napján mért MDA szint pozitív összefüggésben volt a mortalitási valószínűséggel hímeknél, de az IGF-1 szint nem mutatott összefüggést a mortalitással egyik ivar esetén sem.

### **4. Tanulmány**

Az IGF-1 kezelésnek nem volt hatása a tollnövekedés sebességére, de pozitív hatással volt az egyszerre növekvő tollak számára, vagyis megnövelte a vedlés intenzitását. A kezelés nem befolyásolta sem a toll tömegét, sem a tollszár átmérőjét. Azonban a kezelt csoportban szignifikánsan kevesebb volt a tollzászlóban található hibák száma, vagyis az IGF-1 pozitív hatással volt a toll minőségére.

## **5. Tanulmány**

Az IGF-1 pozitív összefüggésben volt a faroktoll hosszával a hímekben, de a tojókban nem. Az IGF-1 nem volt kapcsolatban a barkó hosszával. Az IGF-1 pozitív kapcsolatban volt az UV krómával hímekben. A tojók esetén összetettebb összefüggést találtunk. A könnyebb tojók esetén az IGF-1 a sötétebb színezettel mutatott összefüggést, míg nehezebb tojók esetén a világos színezettel.

## **IV. Összefoglaló és következtetések**

Először is egy terepi vizsgálatban megállapítottuk, hogy az IGF-1 szintje csökken, míg a kortikoszteron (glükokortikoid hormon és a fő "stresszhormon" madarakban) szintje nőtt 15 perces fogvatartás hatására, továbbá a két hormon válaszreakciója egymástól független volt barkóscinegékben (Tóth és mtsai., 2018; 1. tanulmány). Emellett kimutattuk, hogy az IGF-1 a kortikoszterontól függetlenül befolyásolja a fiziológiai stresszválaszt barkóscinegékben (Tóth és mtsai., 2018; 1. tanulmány). Ezt alátámasztja Vágási és mtsai (2020) tanulmánya, melyben azt vizsgálták, hogy a fiziológiai hálózat átalakul-e stressz hatására házi verebek szaporodó populációjában. Vizsgálatukban kimutatták, hogy alap állapotban (stresszor hatása nélkül) pozitív kapcsolat van a kortikoszteron és IGF-1 között, azonban stresszor hatására ez a kapcsolat eltűnik és a két hormon egymástól függetlenné válik. Mivel az IGF-1 képes integrálni a külső (pl.: táplálék elérhetőség, fogvatartás) és a belső (pl.: rendelkezésre álló energiamennyiség, kondíció) környezetből érkező ingereket, ezért az életmenet

tulajdonságok között fennálló energetikai csereviszony egy potenciális irányítója lehet.

Mindemellett korábbi vizsgálatokkal ellentétesen kimutattuk, hogy az IGF-1 szint a táplálék mennyiségének csökkentésére változatosan reagál (Tóth és mtsai., 2022; 2. Tanulmány). A kezelés hatására az egyes egyedek IGF-1 szintje nőtt, csökkent vagy nem változott, azonban az IGF-1 változás egyeden belül ismételhető volt, mely változás összefüggött az egyedek kondíciójával. Hargitai és mtsai. (2022) szaporodási időszakban lévő kanárikon (*Serinus canarius*) kimutatták, hogy az IGF-1 szintje táplálékcsökkentés hatására nő. A fent említett vizsgálatok alapján arra következtethetünk, hogy az IGF-1 táplálékcsökkenés hatására adott válasza függ a fajtól, hiszen a gyíkfajokban alacsonyabb volt az IGF-1 szint a rossz táplálékellátottságú területeken (Duncan és mtsai., 2015), míg a madárfajokban az IGF-1 szint nőtt vagy rendkívül változatos választ mutatott táplálékcsökkenés hatására. Továbbá, az IGF-1 választ jelentős mértékben befolyásolhatja az életmenet állapot, hiszen míg a kanárik már szaporodásra készültek, addig a barkóscinegék még téli nyugalmi állapotukban voltak.

Emellett kimutattuk, hogy az IGF-1 hatása az MDA szintre függ az ivartól, a hímekben nőtt, míg a tojóknban csökkent az MDA szintje az IGF-1 kezelés hatására. Habár a kezelési csoportok között nem volt különbség a túlélés tekintetében, a kezelés előtti IGF-1 szint pozitív, míg a kezelés utáni MDA szint negatív hatással volt a túlélési valószínűségére hímekben. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a hímek érzékenyebbek lehetnek az IGF-1 által megnövelt oxidatív stresszre, mint a tojók. Azonban egereken

és embereken végzett vizsgálatokban ellenkező mintázatot találtak, vagyis a nőstények tűntek érzékenyebbnek az IGF-1 szintjének változására (Holzenberger és mtsai., 2003; van Heemst és mtsai., 2005). Ez azért érdekes, mert az emlősökkel összehasonlítva, a madaraknak fordított ivarspecifikus halálozási mintázata van, vagyis a hímek általában tovább élnek. Így felvetődik annak a lehetősége, hogy az IGF-1 és az IGF-1 okozta oxidatív károsodás hozzájárulhat-e az ivarspecifikus halálozási minták kialakulásához. Emellett meglepő módon a kezelés előtt mért magasabb IGF-1 szint csökkentette a mortalitás valószínűségét a hímekben. Ez az eredmény arra utal, hogy az IGF-1 szintben megfigyelhető változatosság az egyed szintű optimalizáció eredménye lehet (Bonier és Cox 2020). Ebben az összefüggésben, a jó minőségű egyedek képesek elviselni a magas IGF-1 szint költségeit (pl.: az oxidatív károsodás tekintetében), miközben hozzájárulnak a fitneszük növekedéséhez.

Az IGF-1 nem volt hatással az egyes tollak növekedési sebességére, de pozitívan befolyásolta a vedlés intenzitását, vagyis az IGF-1-el kezelt csoportban az egyedek több tollat növesztettek egyszerre. Továbbá, az IGF-1-el kezelt csoportban kevesebb volt a tollászlóban található hibák száma. Eredményeink arra utalnak, hogy az IGF-1 lerövidítheti a vedlés teljes időtartalmát. Habár az IGF-1 által lerövidített vedlési időszaknak jelentős hatása lehet a pillanatnyi túlélésre (pl.: röpképtelen időszak lerövidülése récék félék és akár barkóscinegék esetén), az IGF-1 által okozott oxidatív stressz negatív hatással lehet az élethosszra (3. tanulmány). Emellett kimutattuk, hogy az IGF-1 pozitív hatással van több, a párválasztásban szerepet játszó tollazati bélyeg

kialakulásában, mint például a farokhossz, vagy a strukturális színezet.

Összefoglalva, az IGF-1 egy olyan hormon, ami gyorsan reagál a környezeti körülmények megváltozására és stresszhatásokra, mint például táplálékhiány vagy a befogás (1. és 2. tanulmány). Az IGF-1 jelentős egyedek közötti különbséget (1-3. tanulmány), de egyeden belül nagymértékű ismételtőséget (2-3. tanulmány) mutat. Ez arra utal, hogy az IGF-1 plazmából mérhető szintje egy egyedi fenotípusos jelleg, mely az egyed szintű optimalizáció eredménye lehet. Kimutattuk, hogy az IGF-1 válasza és kifejtett hatása több esetben is kondíciófüggő, és akár különböző színezetek kialakulásához is vezethet, melyen keresztül közvetten befolyásolhatja a párválasztást és a fitneszt. Az IGF-1 szint pozitívan befolyásolja a vedlés intenzitását (4. tanulmány), melynek közvetett pozitív hatása lehet a lerövidült röpképtelen perióduson, vagy a párválasztáshoz szükséges színezet korábbi kialakításán keresztül (4. és 5. tanulmány). Azonban a magas IGF-1 szint magas oxidatív károsodáshoz vezethet, mely az élethossz lerövidülését okozhatja. Így az IGF-1 az intenzív vedlés és az élethossz közötti csereviszony egyik szabályozó mechanizmusa lehet. Meglepő módon kimutattuk, hogy a magas IGF-1 szint pozitív hatással van az élethosszra, ami ellentmond a korábbi szakirodalmi adatoknak, miszerint a magas IGF-1 szint negatívan befolyásolja az élethosszt. Mivel az IGF-1 szintje összefügg a testtömeggel és kondícióval, ezért azt feltételezhetjük, hogy a jó kondíciójú egyedek képesek megbirkózni az IGF-1 által okozott oxidatív károsodással. Azonban az, hogy a magas IGF-1 szinttel rendelkező egyedek kihívást jelentő körülmények között (pl.: hirtelen időjárás

változás) jobban teljesítenek-e, vagy magasabb fitnesszel rendelkeznek-e az alacsony IGF-1 szinttel rendelkező társaikhoz képest, további vizsgálatok tárgyát kell képezze. Saját vizsgálatainkból kitűnik, hogy az IGF-1 több életmenet tulajdonságot és életmenet állapotot is befolyásol.

## V. A disszertáció alapját képező publikációk listája

**Tóth Z.**, Ouyang J.Q., Lendvai Á.Z., 2018. Exploring the mechanistic link between corticosterone and insulin-like growth factor-1 in a wild passerine bird. *PeerJ* 6:e5936

**Tóth Z.**, Mahr K., Ölveczki G., Óri L., Lendvai Á.Z., 2022. Food restriction reveals individual differences in Insulin-like Growth Factor-1 reaction norms. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10:826968

Lendvai, Á.Z., **Tóth, Z.**, Mahr, K., Péntes, J., Vogel-Kindgen, S., Gander, B.A., Vágási, C.I. IGF-1 induces sex-specific oxidative damage and mortality. (manuscript under review)

Lendvai, Á.Z., **Tóth, Z.**, Mahr, K., Osváth, G., Vogel-Kindgen, S., Gander, B.A., 2021. Effects of experimental increase in insulin-like growth factor 1 on feather growth rate, moult intensity and feather quality in a passerine bird. *Journal of Experimental Biology* 224(14) jeb242481

Mahr, K., Vincze, O., **Tóth, Z.**, Hoi, H., Lendvai, Á.Z., 2020. Insulin-like growth factor 1 is related to the expression of plumage traits in a passerine species. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 74, 39.



Nyilvántartási szám: DEENK/457/2023.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Tóth Zsófia

Doktori Iskola: Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola

MTMT azonosító: 10057281

## A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

### Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (4)

1. **Tóth, Z.**, Mahr, K., Ölveczki, G., Őri, L., Lendvai, Á. Z.: Food Restriction Reveals Individual Differences in Insulin-Like Growth Factor-1 Reaction Norms.  
*Front. Ecol. Evol.* 10, 1-12, 2022. ISSN: 2296-701X.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fevo.2022.826968>  
IF: 3
2. Lendvai, Á. Z., **Tóth, Z.**, Mahr, K., Osváth, G., Vogel-Kindgen, S., Gander, B. A.: Effects of experimental increase in insulin-like growth factor 1 on feather growth rate, moult intensity and feather quality in a passerine bird.  
*J. Exp. Biol.* 224 (14), 1-27, 2021. ISSN: 0022-0949.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.242481>  
IF: 3.308
3. Mahr, K., Vincze, O., **Tóth, Z.**, Hoi, H., Lendvai, Á. Z.: Insulin-like growth factor 1 is related to the expression of plumage traits in a passerine species.  
*Behav. Ecol. Sociobiol.* 74 (3), 1-12, 2020. ISSN: 0340-5443.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00265-020-2821-6>  
IF: 2.98
4. **Tóth, Z.**, Ouyang, J. Q., Lendvai, Á. Z.: Exploring the mechanistic link between corticosterone and insulin-like growth factor-1 in a wild passerine bird.  
*PeerJ.* 6, 1-29, 2019. EISSN: 2167-8359.  
DOI: <https://doi.org/10.1101/306407>  
IF: 2.379





## További közlemények

### Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (8)

5. Montoya, B., **Tóth, Z.**, Lendvai, Á. Z., Stier, A., Criscuolo, F., Zahn, S., Bize, P.: Does IGF-1 Shape Life-History Trade-Offs? Opposite Associations of IGF-1 With Telomere Length and Body Size in a Free-Living Bird.  
*Front. Ecol. Evol.* 10, 1-6, 2022. ISSN: 2296-701X.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fevo.2022.853674>  
IF: 3
6. Hargitai, R., Boross, N., **Tóth, Z.**, Lendvai, Á. Z.: Food restriction delays breeding and affects insulin-like growth factor-1, oxidative damage and haematocrit value before egg-laying in female canaries.  
*J. Avian Biol.* 2022 (4), 1-13, 2022. ISSN: 0908-8857.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jav.02866>  
IF: 1.7
7. Rádai, Z., Kiss, J., Nagy, N. A., Somogyi, A. Á., Fülöp, A., **Tóth, Z.**, Alexáné Babits, M., Németh, Z.: State and physiology behind personality in arthropods: a review.  
*Behav. Ecol. Sociobiol.* 76, 1-20, 2022. ISSN: 0340-5443.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00265-022-03259-6>  
IF: 2.3
8. Huber, N., Mahr, K., **Tóth, Z.**, Szarka, E. Z., Çinar, Y. U., Salmón, P., Lendvai, Á. Z.: The stressed bird in the hand: Influence of sampling design on the physiological stress response in a free-living songbird.  
*Physiol. Behav.* 238, 1-8, 2021. ISSN: 0031-9384.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113488>  
IF: 3.742
9. Lendvai, Á. Z., **Tóth, Z.**, Péntzes, J., Vogel-Kindgen, S., Gander, B. A., Vágási, C. I.: Insulin-like growth factor 1 induces oxidative damage, but does not affect survival in a songbird.  
*BioRxiv* 2020, 1-12, 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.03.27.012120>
10. Vágási, C. I., **Tóth, Z.**, Péntzes, J., Pap, P. L., Ouyang, J. Q., Lendvai, Á. Z.: The Relationship between Hormones, Glucose, and Oxidative Damage Is Condition and Stress Dependent in a Free-Living Passerine Bird.  
*Physiol. Biochem. Zool.* 93 (6), 466-476, 2020. ISSN: 1522-2152.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1086/711957>  
IF: 2.247



**Short thesis for the degree of Doctor of Philosophy  
(PhD)**

**The role of insulin-like growth factor-1 in life-history  
decisions in the Bearded reedling**

by Zsófia Tóth

Supervisor: Dr. Ádám Zoltán Lendvai



University of Debrecen  
Juhász-Nagy Pál Doctoral School

Debrecen, 2023



## **I. Introduction and objectives**

Life-history theory is one of the branches of evolutionary biology, which aims to explain the causes and consequences of variation in life cycles (Flatt and Heyland, 2011; Stearns, 1993). The most often investigated life-history traits include size at birth, age, and size at maturity, number, size, and sex ratio of offspring, reproductive investment, and lifespan. During evolution, these traits became highly variable among- and within species in response to the given circumstances to maximise their fitness (relative reproductive success) (Stearns, 2000). However, due to limited resources, it is impossible to maximise all life-history traits. These limitations lead to resource allocation dilemmas between current and future reproduction and survival, resulting in energetic trade-offs between life-history traits that may cause negative phenotypic correlations (Stearns, 1989; Zera and Harshman, 2001).

One of the most robust patterns is that fecundity is inversely related to lifespan. This antagonistic relationship between survival and reproduction is a central tenet in life-history theory and is explained by the “costs of reproduction” (Williams, 1966). Because resources are often limited in nature, the idea that life-history trade-offs are the result of resource constraints became a fundamental concept of life-history theory (Roff and Fairbairn, 2007). Traditionally, it has been thought that the cause of these trade-offs is the limited internal energy reserves. However, later studies showed that the trade-offs might not be the cause of limited resources but rather the molecular signal originating from the gonads (Hsin

and Kenyon, 1999). Therefore, another view has emerged, which states that the “pleiotropic” effects of regulators cause the trade-off between competing life-history traits (Leroi, 2001). Because hormones can simultaneously regulate many traits (hormonal pleiotropy), they are key mediators of life-history trade-offs between reproduction and lifespan (Martin et al., 2011; Wingfield et al., 1998). Hormones integrate information from both external (i.e. ecological or demographic processes) and internal (i.e. nutritional condition, age-specific survival) environments and act as a mediator to shape the best response to the given circumstances (Zera and Harshman, 2001). Since major traits of the phenotype are under endocrine control, hormones are one of the major determinants of pleiotropy, life history correlations, and trade-offs. Although, many signalling pathways have a role in shaping phenotype, in this thesis, I will focus on the role of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in the determination of life-history strategies in a common passerine, the Bearded reedling (*Panurus biarmicus*).

The possible hormonal regulators of trade-offs need to collect information about resource availability and forward a signal to the relevant parts of the organism to regulate energy expenditure in the face of environmental variation (Harshman and Zera, 2007). One possibility to explore is whether the given hormonal pathway may have this life-history regulatory function to expose individuals to stressors. Stressors can be easily standardised, and the response to them is ecologically relevant because to maximise fitness, all organisms must be able to cope with environmental changes, such as predator attacks, inclement weather, or food

shortages (Hawlena and Schmitz, 2010; Romero et al., 2000; Wingfield et al., 1998). Therefore, understanding the response to stressors of the given hormone can provide great insight into its possible role in shaping life-history strategies. IGF-1 levels are expected to change under handling and nutritional stress. For instance, in response to restraint stress, circulating IGF-1 levels and other components of the IIS pathways decreased in pigs *Sus scrofa domestica* (Wirthgen et al., 2017), and fish (Davis and Peterson, 2006), suggesting that IGF-1 is a relevant hormone of the stress response. However, it is not clear whether the change in IGF-1 levels is triggered by the stress-induced change in glucocorticoids (GCs; known as “stress hormones”) or it is the direct consequence of the stressor (Davis and Peterson, 2006). Previously, it was shown that GC administration decreased IGF-1 levels in chicken (Leili and Scanes, 1998), fish (Peterson and Small, 2005), and rats (Gayan-Ramirez et al., 1999), but this effect existed only at high GC concentrations or prolonged GC exposure (Bossis and Porter, 2003; Davis and Peterson, 2006). Until recently, the effects of stressors on IGF-1 levels or the mechanistic link between HPA (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis) and HPS (Hypothalamic-Pituitary-Somatic axis) axis in any free-living organism was not studied. Therefore, we aimed to investigate **whether (Study1: Q1) an external stressor affects plasma levels of IGF-1 and whether (Study1: Q2) cort (the primary GC stress hormone in birds) directly affects IGF-1 levels.**

Food shortages are one of the main stressors that almost all organisms need to cope with. Therefore, the physiological mechanisms that play a role in nutrient sensing

could have a key role in mediating energy allocation between competing life-history traits. However, we know that IGF-1 responds to changes in food availability (Berryman et al., 2008), and our knowledge of IGF-1's role in facilitating an appropriate response to changes in food availability in wild animals is limited. As far as we know, only a handful of studies examined the effect of food restriction on IGF-1 (Duncan et al., 2015; Sparkman et al., 2010). **Therefore, we aimed to study how IGF-1 responds to fluctuations in food availability in a wild-caught captive population of Bearded reedlings (Study 2).**

The insulin/insulin-like signalling pathway (IIS) has been suggested as a key physiological mechanism regulating lifespan and ageing (Dantzer and Swanson, 2012; Holzenberger et al., 2003; Kappeler et al., 2008). IGF-1, as the primary hormone of the IIS pathway in vertebrates, stimulates growth, and reproduction at high levels but increases mortality (Dantzer and Swanson, 2012). Higher IGF-1 levels are associated with a shorter lifespan (Lewin et al., 2017; Lodjak et al., 2018). However, the exact mechanism of how IGF-1 regulates lifespan is not clear. In vertebrates, one hypothesis suggests that reduced IIS signalling increases resistance to oxidative stress (OS) (Dantzer and Swanson, 2012; Holzenberger et al., 2003; Kenyon, 2010). OS can damage proteins, lipids, or even the DNA itself, causing the improper functioning of the cells, and leading to reduced lifespan (Finkel and Holbrook, 2000; Vágási et al., 2019). Vágási et al., 2020 showed in House sparrows (*Passer domesticus*) that IGF-1 levels is positively related to MDA levels (malondialdehyde, a marker to measure oxidative damage caused by ROS). However, IGF-1 influences lifespan,

and we know that IGF-1 signalling has a potential role in OS resistance. However, we do not know how IGF-1 and OS are interconnected in regulating lifespan in wild animals. Therefore, **we aimed to test (Study3: Q1) the effect of IGF-1 on oxidative damage** (expressed through malondialdehyde [MDA] levels) and **(Study3: Q2) whether IGF-1 could have a long-term effect on lifespan.**

Growth is an energetically highly demanding process; therefore, trade-offs can occur between growth and other life-history traits (Werner and Anholt 1993; Yearsley et al., 2004). Moulting as a growth process, is also one of the most important life-history stages of birds. The moulting of the birds is under tight control and optimised for the given environment and the species' life-history (De La Hera et al., 2009; Kiat and Sapir, 2017). We know that moulting is one of the major life-history stages of birds, but the role of IGF-1 in the moulting of birds is overlooked. We know of only one study showing that stress-induced moult was related to IGF-1 levels in broiler chickens (Mazzuco et al., 2005). Therefore, **we aimed to study whether the experimentally elevated IGF-1 influenced feather growth rate, moult intensity, and the quality of the feathers** (Study 4).

In birds, feathers are important not just for locomotion and insulation but play a crucial role in camouflage and mate choice, and they underlie sexual selection (Groscolas and Cherel, 1992; Hill and McGraw, 2006). The development of plumage ornaments and the growth of feathers require a lot of energy and major changes in metabolism, such as increased cell differentiation, proliferation rate, and protein synthesis (Kuenzel, 2003). Since IGF-1 regulates these processes, which

are tightly linked to moulting, it might also influence the development of plumage ornaments. Therefore, **we aimed to study the relationship between plumage traits and IGF-1 (Study 5).**

## **II. Materials and methods**

### **Study 1**

We used a standard capture-handling-restraint protocol to trigger a physiological stress response in 17 wintering free-living Bearded reedlings between September 2015 and January 2016. We took the first blood sample as soon as the bird was captured. We took the second blood sample 15 minutes after the initial capture.

Second, we captured 21 wintering Bearded reedlings between the 18<sup>th</sup> of October and the 16<sup>th</sup> of November 2016. We transferred them to an outdoor aviary, where they spent four months. At the onset of the study, we moved the birds to individual cages and manipulated their cort level using a non-invasive, oral manipulation via mealworms filled with: no cort (control), low (0.2mg/ml), or high cort dose (0.5mg/ml). All birds were assigned to one of the treatment groups, we gave to the birds through the backdoor of their cage a mealworm filled with one of the cort concentrations or just solvent according to their treatment group and we took blood samples 15 minutes after the birds consumed the mealworms. We repeated the procedure again, where every bird was assigned to a different treatment group.

## **Study 2**

We caught 24 juvenile Bearded reedlings at Hortobágy-Halastó, in July 2017. The birds spent seven months in the aviary before the experimental procedure to acclimate to the captive conditions. We captured the birds from the aviary two weeks before the experiment; we transferred them into individual cages located in the outdoor aviary. We established two dietary regimes: control (110% of individual daily food consumption) and restricted diet (70% of individual daily food consumption), and we exposed the individuals to both dietary regimes twice in a row. One dietary regime lasted for three days. We let the birds recover for another three days on *ad libitum* food, and then we repeated the experiment. That means all birds were assigned twice to control and twice to a restricted diet. We measured body mass and circulating IGF-1 levels after each dietary treatment.

## **Study 3**

We captured 16 female and 25 male juveniles (hatched in the year of capture) Bearded reedlings between the 28<sup>th</sup> and the 30<sup>th</sup> of July 2017. We transferred the birds into an outdoor aviary, where we kept groups of three or four individuals in cages. The birds were randomly assigned to one of the treatment groups: control (no IGF-1) or treated (272 ng/mg IGF-1). We took blood samples right before the treatment (day 0) to measure baseline hormone levels, and then we took blood samples 24 (day 1) and 96 hours (day 4) after the treatment. After the experiment, we released the birds into two outdoor aviaries for an additional 13 months to follow the mortality of our study population.

## **Study 4**

We captured 41 juvenile (hatched in the year of capture) Bearded reedlings between the 28<sup>th</sup> and the 30<sup>th</sup> of July 2017, the same flock of birds as in Study 3. We quantified the moulting stage of the bird by Jenni and Winkler (2020), and we transferred only moulting juveniles into an outdoor aviary, where we kept groups of three or four individuals in cages. We used the same birds and protocol for IGF-1 manipulation described in Study 3. We calculated the moult index as the sum of the moulting scores of the individual feathers on day 0 (pre-treatment) and day 15 (post-treatment). We took blood samples on days 0, 1, and 4. We measured body mass and the length of growing feathers on days 0, 1, 4, and 15. When the birds finished their moult, we captured them again and measured their wing, tail length, and the length of the males' beards (these are modified long body feathers). We plucked the longest tail feather (Ta1) and established its quality by length, mass, rachis diameter, and the number of fault bars (Jovani and Rohwer, 2017; Pap et al., 2008).

## **Study 5**

We captured 42 moulting Bearded reedlings in September and October 2016 in Lake Fertő. After the capture, the morphometric measurements, and blood sampling, we transferred the birds into a semi-natural, outdoor aviary located at Konrad Lorenz Institute of Ethology, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria. All captive birds finished the moulting under the same conditions. When the birds finished their moult, we characterised their plumage traits. We measured UV chroma (the proportion of reflectance in the

UV range compared to the total reflectance) and brightness (the degree of melanisation) using a spectrometer with a deuterium halogen lamp. We measured the UV chroma three times in each of the following body regions: in males, we measured the head, flank, back, and chin; in females, we measured the chin, cheek, and back. In addition, we measured the length of the tails in both sexes and the beard of the males. In the following step, we tested the relationship between plasma IGF-1 level and plumage ornaments.

### **III. Results**

#### **Study 1**

In the first part of the study, we found that cort levels were significantly higher, while IGF-1 levels were significantly lower after the 15-minute restraint stress. Sex and body mass did not influence cort levels, while IGF-1 levels were higher in males than in females, but body mass did not affect IGF-1 levels. We did not find a relationship between IGF-1 and cort at the baseline level, and the change in cort and IGF-1 levels was also unrelated. In the second half of the study, we found that cort manipulation increased cort levels, but did not influence IGF-1 levels.

#### **Study 2**

We found that food restriction decreased all individuals' body mass, indicating an effective and physiologically challenging treatment. In general, IGF-1 was positively associated with body mass, which is consistent with previous findings in different taxa such as fish, reptiles, and

mammals [Cameron et al., 2007; Crain et al., 1995; Sparkman et al., 2009]. Males had higher IGF-1 levels compared with females, but if we controlled for body mass, the sex difference in IGF-1 levels disappeared. These findings suggest that the sex differences originate from the sex-dependent body mass differences rather than the sex itself.

We found that, overall, food restriction increased IGF-1 levels. Still at the individual level, we found high among-individual variance in response to food restriction i.e. some individuals decreased, while others showed little response or increased their IGF-1 levels, and the within-individual response was highly repeatable. The response of IGF-1 to food restriction was also affected by the individual's body mass, namely, individuals larger than the average were more likely to decrease their IGF-1 levels, while birds lighter than the average were more likely to increase their IGF-1 levels.

### **Study 3**

IGF-1 levels did not differ between the groups before treatment on day 0, but they were higher in the treatment group than in the control group on day 1. However, the difference between the treatment groups disappeared by day 4. IGF-1 level was higher in males than females, and IGF-1 levels showed high within-individual repeatability.

Males had higher pre-treatment MDA levels than females. IGF-1 injection significantly increased MDA levels in males, but non-significantly decreased them in females on day 1 of the experiment. These differences disappeared by day 4. Treatment (day 1) did not influence mortality over the 16 months of the study. However, the baseline IGF-1 level (pre-

treatment) has a positive relationship with survival in males, the MDA level did not have a significant effect. On day 4 (post-treatment) higher MDA levels were associated with increased mortality in males, while did not influence mortality in females. We did not find any effect of day 4 IGF-1 on mortality.

#### **Study 4**

We found that the IGF-1 manipulation increased IGF-1 levels on day 1, but this effect disappeared by day 4. IGF-1 supplementation did affect the feather growth rate, but we found that the treated birds displayed a higher number of actively growing feathers than control birds, i.e. the intensity of moult was higher in the treatment group than in the control group on day 15. We did not show any adverse effect of IGF-1 manipulation on feather quality, IGF-1 influenced neither the rachis diameter nor feather mass. Furthermore, IGF-1 improved the feather quality because the IGF-1-treated group had significantly fewer fault bars (malformation of the feather often caused by stress or disease) in their feathers compared with the control group.

#### **Study 5**

We were able to show for the first time that IGF-1 influences the development of sexually selected plumage traits in birds. We found a significant positive relationship between tail length and IGF-1 levels in males but not in females. IGF-1 was not associated with the beard length of the males. We found a positive relationship between IGF-1 levels and UV chroma in males. In females, we found a more complex picture. In females with lower body mass, IGF-1 was

associated with darker colouration, while in heavier females, IGF-1 was associated with brighter colouration.

#### **IV. Discussion**

We found that IGF-1 levels decreased, while cort levels increased due to restraint stressor (Study 1). Vágási et al. (2020) showed in house sparrows that the 30 minutes of handling stress also decreased the level of IGF-1 (Vágási et al., 2020). These results are in line with previous studies on non-avian species such as fish (Davis and Peterson, 2006; Wilkinson et al., 2006) and pigs (Wirthgen et al., 2017), where the confinement stress also significantly decreased IGF-1 levels. These studies, along with our results suggest that IGF-1 is a good candidate to establish an appropriate physiological response to the changing environment.

However, to understand how animals cope with stressful situations, we need to explore how different physiological mechanisms interact with each other (Vágási et al., 2020). To test how IGF-1 interacts with other physiological pathways, it is inevitable to investigate the relationship between the HPA and HPS axes. Firstly, we investigated the relationship between cort and IGF-1 at the baseline level. We did not find any relationship between cort and IGF-1 in wintering Bearded reedlings (Study 1), but Vágási et al (2020) showed in breeding house sparrows that cort had a positive relationship with IGF-1 levels. It was shown that IGF-1 has a positive effect on reproduction by elevating the rate of steroidogenesis of reproductive hormones and the development of specific reproductive structures (Demeestere

et al., 2004; Wang and Hardy, 2004; Weinzimer and Cohen, 1999). Since IGF-1 is necessary for the appropriate functioning of the reproductive system in both sexes, IGF-1 is probably higher during the breeding season, and the nature of the relationship between IGF-1 and cort is changing among different life-history stages. This hypothesis, namely that the relationship between IGF-1 and cort is context-dependent, can be supported by Vágási et al. (2020). Vágási et al. (2020) showed that the relationship between cort and IGF-1 changed when the individuals stepped into the so-called “emergency” life-history stage. Due to stressors, the studied physiological network dramatically reorganised, the positive relationship between cort and IGF-1 disappeared, and they became independent regulators. Finally, we artificially elevated cort levels in wintering Bearded reedlings, and however cort levels increased, the cort manipulation did affect IGF-1 levels.

On the other hand, Lodjak et al. (2016), found a context-dependent relationship between IGF-1 and cort in Great tit nestlings. IGF-1 was positively related to cort in decreased broods, while they found a negative relationship between IGF-1 and cort in enlarged broods. Based on previous studies which showed that brood size manipulation has an effect on provisioning rate per capita compared with control broods (Pettifor et al., 2001; Sanz and Tinbergen, 1999), Lodjak et al. (2016) hypothesised the relationship between cort and IGF-1 depends on the individuals’ physiological condition. They hypothesised the existence of a physiological turning point where the relationship between cort and IGF-1 can change. Our findings (Study 2), that heavier birds decreased, while light birds increased their IGF-1 levels, may support the idea of

such physiological turning point. But it should be taken into account that we found that food restriction increased IGF-1 levels, while Lodjak et al. (2016) found that IGF-1 was lower in groups with poorer food availability. This difference can happen because the nestlings are in an active growth period and higher IGF-1 is needed for faster growth and earlier fledging. At the same time, adult birds can express different strategies to cope with environmental challenges. We found a high among-individual variance between individual IGF-1 responses to food restriction (Study 2), namely heavier birds decreased while lighter birds increased their IGF-1 levels. For lighter birds, the very fast weight loss can be fatal. Therefore they may increase their IGF-1 to slow down protein degradation and use energy reserves (which can manifest in slower weight loss). This hypothesis corroborates a previous study on mice, where the IGF-1-injected individuals lost less weight than the control individuals during starvation (O'Sullivan et al., 1989). On the other hand, heavier birds with decreased IGF-1 levels may suppress insulin activity to elevate blood glucose levels, and this amount of glucose may be enough to keep their life-processes normal during food restriction. However, Vágási et al. (2020) showed in house sparrows that after handling stress, the higher the IGF-1 level is the higher the blood glucose level, which contradicts to our hypothesis that heavier birds with decreased IGF-1 levels can increase blood glucose levels. The differences can come from that IGF-1 may express different response patterns to different stressors.

IGF-1 interacts not just with the HPA axis, but also with other physiological traits that influence fitness. It was

shown that high IGF-1 concentration is associated with a shorter lifespan in reptiles, passerines, and mammals (Holzenberger et al., 2003; Lewin et al., 2017; Lodjak et al., 2018; Sparkman et al., 2009). The exact mechanism of how IGF-1 can influence longevity is still far from clear, but we tested a major hypothesis, namely that IGF-1 mediates longevity across oxidative stress (Dantzer and Swanson, 2012; Holzenberger et al., 2003; Kenyon, 2010). We showed for the first time that experimentally elevated IGF-1 levels increase oxidative damage (MDA level) in Bearded reedlings (Study 3). Our results are in line with Vágási et al. (2020), where plasma IGF-1 levels were positively related to MDA levels in adult House sparrows. However, our treatment increased the IGF-1 level, but the IGF-1-induced MDA level differed between the sexes. MDA level significantly increased in males, while it non-significantly decreased in females. However, we did not show that the IGF-1-induced MDA level influenced mortality, males that had relatively higher post-treatment MDA levels were less likely to survive, while females showed the opposite pattern. We found that males had overall higher IGF-1 and MDA levels compared to females and were more sensitive to IGF-1-induced oxidative damage. Previous studies showed the opposite pattern in mammals: females were more susceptible to variation in IGF-1 levels (Elis et al., 2011; Van Heemst et al., 2005; Holzenberger et al., 2003). In mammals the females, while in birds, the males are the homogametic sex, which brings up the possibility that the sex-specific effect of IGF-1 on lifespan depends on genetic sex determination (Bronikowski et al., 2022).

One of the major life-history stages of adult birds is moult, which is an energetically demanding process. Moult, i.e. the renewal of feathers is highly important to birds because feathers are crucial for foraging (i.e. moving to the feeding ground or hunting in case of birds of prey), insulation, also feathers play a key role in mate choice in certain species. During our studies, we found a controversial effect of IGF-1 on feather length. We showed that neither IGF-1 treatment nor the natural variation in IGF-1 levels influences the length of the feathers in juvenile Bearded reedlings (Study 4), but we found a positive relationship between tail feather length and IGF-1 only in adult males in the same species (Study 5). Based on these results, we suggest that IGF-1 could have an age-specific effect on feather length. The lack of the IGF-1 effect on wing feathers is not entirely surprising because the wing feathers are crucial for flying, and the birds may benefit from disentangling the control of flight feather growth from a hormone that is highly sensitive to environmental changes (Study 1 and 2). However, IGF-1 did not influence feather growth rate, it seems IGF-1 increases the number of moulted feathers simultaneously. This result is in line with previous studies on mammals, which showed that IGF-1 positively influences the number of hair follicles (Ahn et al., 2012). The feather growth rate seems to have a physiological limit (Rohwer et al., 2009). Accelerated moult is associated with lower feather quality, including feather mass (Dawson, 2000), the number of fault bars (Vágási et al., 2012), and colouration (Griggio et al., 2009; Serra et al., 2007). Although previous studies showed that accelerated moult is associated with worse feather quality, we found that IGF-1 treatment

increased moult intensity, and increased feather quality by decreasing fault bars (Study 4). Feather quality can be assessed not only by the feather's macrostructure, but also by the nanostructure (structural plumage). We found that IGF-1 has a positive effect on the feathers' structural plumage, causing higher UV chroma in male Bearded reedlings (Study 5). On the other hand, we found that the relationship between IGF-1 and brightness is condition-dependent in female Bearded reedlings, in females with low body mass IGF-1 has a negative relationship with brightness causing darker colour, while in heavy birds IGF-1 has a positive effect on brightness causing lighter colour (Study 5).

Despite the fact that there is a trade-off between moulting and the other life-history stages and/or traits, we know very little about the physiological control of moult including feather growth, moult intensity, and plumage ornamentation. Moult and feather quality are highly dependent on environmental changes, and it was shown that physiological stress and nutritional status have a negative effect on feather quality and influence the length of moult (Griggio et al., 2009; Hudson and Wilcoxon, 2018; Svensson and Merilä, 1996). Considering that IGF-1 mediates physiological processes necessary for moulting (e.g. cell differentiation and proliferation or protein synthesis), and is sensitive to environmental changes (Study 1 and 2) can influence feather quality and plumage ornamentation via regulating the process of moult (Study 4 and 5).

To conclude, we found large inter-individual variance in the baseline level of IGF-1 in all studies, also we showed high individual variance in reaction norms to different

stressors. Therefore, the natural variation of IGF-1 may be the result of individual optimisation - i.e. Optimal Endocrine Phenotype Hypothesis (Bonier and Cox, 2020) to mediate the trade-offs between life-history traits and stages. We studied how IGF-1 influences important life-history traits such as longevity and growth (as feather growth), and how IGF-1 can modulate important life-history stages such as moulting and the “emergency” life-history stage. In the present dissertation, I showed that IGF-1 has a positive effect on feather quality, but increases oxidative damage that can be related to shorter lifespan. These results suggest that IGF-1 may stand at the crossroads of life-history trade-offs, and can be one of the key physiological factors to establish the optimal or near-optimal endocrine phenotypes in response to the environment to maximise fitness.

## **V. The list of publications which constitute the foundations of the thesis**

**Tóth Z.**, Ouyang J.Q., Lendvai Á.Z., 2018. Exploring the mechanistic link between corticosterone and insulin-like growth factor-1 in a wild passerine bird. *PeerJ* 6:e5936

**Tóth Z.**, Mahr K., Ölveczki G., Őri L., Lendvai Á.Z., 2022. Food restriction reveals individual differences in Insulin-like Growth Factor-1 reaction norms. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10:826968

Lendvai, Á.Z., **Tóth, Z.**, Mahr, K., Péntzes, J., Vogel-Kindgen, S., Gander, B.A., Vágási, C.I. IGF-1 induces sex-specific oxidative damage and mortality. (under review)

Lendvai, Á.Z., **Tóth, Z.**, Mahr, K., Osváth, G., Vogel-Kindgen, S., Gander, B.A., 2021. Effects of experimental increase in insulin-like growth factor 1 on feather growth rate, moult intensity and feather quality in a passerine bird. *Journal of Experimental Biology* 224(14) jeb242481

Mahr, K., Vincze, O., **Tóth, Z.**, Hoi, H., Lendvai, Á.Z., 2020. Insulin-like growth factor 1 is related to the expression of plumage traits in a passerine species. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 74, 39.



Registry number: DEENK/457/2023.PL  
Subject: PhD Publication List

Candidate: Zsófia Tóth

Doctoral School: Pál Juhász-Nagy Doctoral School of Biology and Environmental Sciences

MTMT ID: 10057281

### List of publications related to the dissertation

#### Foreign language scientific articles in international journals (4)

1. **Tóth, Z.**, Mahr, K., Ölveczki, G., Őri, L., Lendvai, Á. Z.: Food Restriction Reveals Individual Differences in Insulin-Like Growth Factor-1 Reaction Norms.  
*Front. Ecol. Evol.* 10, 1-12, 2022. ISSN: 2296-701X.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fevo.2022.826968>  
IF: 3
2. Lendvai, Á. Z., **Tóth, Z.**, Mahr, K., Osváth, G., Vogel-Kindgen, S., Gander, B. A.: Effects of experimental increase in insulin-like growth factor 1 on feather growth rate, moult intensity and feather quality in a passerine bird.  
*J. Exp. Biol.* 224 (14), 1-27, 2021. ISSN: 0022-0949.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.242481>  
IF: 3.308
3. Mahr, K., Vincze, O., **Tóth, Z.**, Hoi, H., Lendvai, Á. Z.: Insulin-like growth factor 1 is related to the expression of plumage traits in a passerine species.  
*Behav. Ecol. Sociobiol.* 74 (3), 1-12, 2020. ISSN: 0340-5443.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00265-020-2821-6>  
IF: 2.98
4. **Tóth, Z.**, Ouyang, J. Q., Lendvai, Á. Z.: Exploring the mechanistic link between corticosterone and insulin-like growth factor-1 in a wild passerine bird.  
*PeerJ.* 6, 1-29, 2019. EISSN: 2167-8359.  
DOI: <https://doi.org/10.1101/306407>  
IF: 2.379





### List of other publications

#### Foreign language scientific articles in international journals (8)

5. Montoya, B., **Tóth, Z.**, Lendvai, Á. Z., Stier, A., Criscuolo, F., Zahn, S., Bize, P.: Does IGF-1 Shape Life-History Trade-Offs? Opposite Associations of IGF-1 With Telomere Length and Body Size in a Free-Living Bird.  
*Front. Ecol. Evol.* 10, 1-6, 2022. ISSN: 2296-701X.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fevo.2022.853674>  
IF: 3
6. Hargitai, R., Boross, N., **Tóth, Z.**, Lendvai, Á. Z.: Food restriction delays breeding and affects insulin-like growth factor-1, oxidative damage and haematocrit value before egg-laying in female canaries.  
*J. Avian Biol.* 2022 (4), 1-13, 2022. ISSN: 0908-8857.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jav.02866>  
IF: 1.7
7. Rádai, Z., Kiss, J., Nagy, N. A., Somogyi, A. Á., Fülöp, A., **Tóth, Z.**, Alexáné Babits, M., Németh, Z.: State and physiology behind personality in arthropods: a review.  
*Behav. Ecol. Sociobiol.* 76, 1-20, 2022. ISSN: 0340-5443.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00265-022-03259-6>  
IF: 2.3
8. Huber, N., Mahr, K., **Tóth, Z.**, Szarka, E. Z., Çınar, Y. U., Salmón, P., Lendvai, Á. Z.: The stressed bird in the hand: Influence of sampling design on the physiological stress response in a free-living songbird.  
*Physiol. Behav.* 238, 1-8, 2021. ISSN: 0031-9384.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113488>  
IF: 3.742
9. Lendvai, Á. Z., **Tóth, Z.**, Péntzes, J., Vogel-Kindgen, S., Gander, B. A., Vágási, C. I.: Insulin-like growth factor 1 induces oxidative damage, but does not affect survival in a songbird.  
*BioRxiv* 2020, 1-12, 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.03.27.012120>
10. Vágási, C. I., **Tóth, Z.**, Péntzes, J., Pap, P. L., Ouyang, J. Q., Lendvai, Á. Z.: The Relationship between Hormones, Glucose, and Oxidative Damage Is Condition and Stress Dependent in a Free-Living Passerine Bird.  
*Physiol. Biochem. Zool.* 93 (6), 466-476, 2020. ISSN: 1522-2152.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1086/711957>  
IF: 2.247



## Irodalomjegyzék/References

- Ahn, S.-Y., Pi, L.-Q., Hwang, S.T., Lee, W.S., 2012. Effect of IGF-I on hair growth is related to the anti-apoptotic effect of IGF-I and up-regulation of PDGF-A and PDGF-B. *Ann. Dermatol.* 24, 26. doi:10.5021/ad.2012.24.1.26
- Berryman, D.E., Christiansen, J.S., Johannsson, G., Thorner, M.O., Kopchick, J.J., 2008. Role of the GH/IGF-1 axis in lifespan and healthspan: lessons from animal models. *Growth Horm. Res. Soc. Int. IGF Res. Soc.* 18, 455-471. <https://doi.org/10.1016/j.gghr.2008.05.005>
- Bonier, F., Cox, R.M., 2020. Do hormone manipulations reduce fitness? A meta-analytic test of the Optimal Endocrine Phenotype Hypothesis. *Mol. Cellul. End.* 500, 110640. <https://10.1016/j.mce.2019.110640>
- Bossis, I., Porter, T.E., 2003. Evaluation of glucocorticoid-induced growth hormone gene expression in chicken embryonic pituitary cells using a novel in situ mRNA quantitation method. *Mol. Cell. Endocrinol.* 201, 13-23. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(03\)00006-6](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(03)00006-6)
- Bronikowski, A.M., Meisel, R.P., Biga, P.R., Walters, J.R., Mank, J.E., Larschan, E., Wilkinson, G.S., Valenzuela, N., Conard, A.M., de Magalhães, J.P., Duan, J.E., Elias, A.E., Gamble, T., Graze, R.M., Gribble, K.E., Kreiling, J.A., Riddle, N.C. 2022. Sex-specific aging in animals: Perspective and future directions. *Aging Cell*, 21, e13542. <https://doi.org/10.1111/acel.13542>
- Crain, D.A., Bolten, A.B., Bjørndal, K.A., Guillerter Jr., L.J., Gross, T.S., 1995. Size-Dependent, Sex-Dependent, and Seasonal Changes in Insulin-like Growth Factor I in the Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 98, 219-226. <https://doi.org/10.1006/gcen.1995.1063>
- Dantzer, B., Swanson, E.M., 2012. Mediation of vertebrate life histories via insulin-like growth factor-1. *Biol. Rev.* 87, 414-429. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2011.00204.x>
- Davis, K.B., Peterson, B.C., 2006. The effect of temperature, stress, and cortisol on plasma IGF-I and IGF-BPs in sunshine bass. *Gen. Comp. Endocrinol.* 149, 219-225. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2006.05.009>
- Dawson, A., Hinsley, S.A., Ferns, P.N., Bonser, R.H.C., Eccleston, L., 2000. Rate of moult affects feather quality: a mechanism linking current reproductive effort to future survival. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267, 2093-2098. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1254>
- De La Hera, I., Pérez-Tris, J., Tellería, J.L., 2009. Migratory behaviour affects the trade-off between feather growth rate and feather quality in a passerine bird. *Biol. J. Linn. Soc.* 97, 98-105. doi:10.1111/j.1095-8312.2008.01189.x
- Demeestere, I., Gervy, C., Centner, J., Devreker, F., Englert, Y., Delbaere, A., 2004. Effect of insulin-like growth factor-I during preantral follicular culture on steroidogenesis, in vitro oocyte maturation, and embryo development in mice. *Biol. Rep.* 70, 1664-1669. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023317>
- Duncan, C.A., Jetzt, A.E., Cohick, W.S., John-Alder, H.B., 2015. Nutritional modulation of IGF-1 in relation to growth and body condition in *Sceloporus* lizards. *Gen. Comp. Endocrinol.* 216, 116-124. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.02.009>
- Elis, S., Wu, Y., Courtland, H-W., Sun, H., Rosen, C.J., Adamo, M.L., Yakar S., 2011. Increased serum IGF-1 levels protect the musculoskeletal system but are associated with elevated oxidative stress markers and increased mortality independent of tissue igf1 gene expression. *Aging Cell* 10, 547-550. <https://10.1111/j.1474-9726.2011.00683.x>
- Finkel, T., Holbrook, N.J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408, 239-247. <https://doi.org/10.1038/35041687>
- Flatt, T., Heyland, A. (Eds.), 2011. *Mechanisms of Life History Evolution: The Genetics and Physiology of Life History Traits and Trade-Offs*. Oxford University. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199568765.001.0001>
- Gayán-Ramirez, G., Vanderhoydonc, F., Verhoeven, G., Decramer, M., 1999. Acute Treatment with Corticosteroids Decreases IGF-1 and IGF-2 Expression in the Rat Diaphragm and Gastrocnemius. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159, 283-289. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.159.1.9803021>
- Griggio, M., Serra, L., Licheri, D., Campomori, C., Pilastro, A., 2009. Moult speed affects structural feather ornaments in the blue tit. *J. Evol. Biol.* 22, 782-792. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01700.x>

- Groscolas, R., Cherel, Y., 1992. How to moult while fasting in the cold: the metabolic and hormonal adaptations of emperor and king penguins. *Ornis Scand.* 23, 328-334. doi:10.2307/3676657
- Hargitai, R., Boross, N., Tóth, Z., Lendvai, Á.Z., 2022. Food restriction delays breeding and affects insulin-like growth factor-1, oxidative damage and haematocrit value before egg-laying in female canaries. *J. A Biol.* E02866. <https://doi.org/10.1111/jav.02866>
- Harshman, L.G., Zera, A.J., 2007. The cost of reproduction: the devil in the details. *Trends Ecol. Evol.* 22, 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.10.008>
- Hawlena, D., Schmitz, O.J., 2010. Physiological Stress as a Fundamental Mechanism Linking Predation to Ecosystem Functioning. *Am. Nat.* 176, 537-556. <https://doi.org/10.1086/656495>Higashi, Y., Sukhanov, S., Anwar, A., Shai, S.Y., Delafontaine P., 2010. IGF-1, oxidative stress and atheroprotection. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 21, 245-254. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.12.005>
- Hill, G.E., McGraw, K.J., 2006. *Bird colouration - function and evolution*, vol 2. Harvard University Press, Cambridge
- Holzenberger, M., Dupont, J., Ducos, B., Leneuve, P., Géloën, A., Even, P.C., Cervera, P., Le Bouc, Y., 2003. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 421, 182-187. <https://doi.org/10.1038/nature01298>
- Hsin, H., Kenyon, C. 1999. Signals from the reproductive system regulate the lifespan of *C. Elegans*. *Nature* 399, 362-366. <https://doi.org/10.1038/20694>
- Hudson, S.B., Wilcoxon, T.E., 2018. Condition dependence of structural plumage coverage in indigo buntings *Passerina cyanea*. *Avian Biol. Res.* 11, 54 - 61. <https://doi.org/10.3184/175815617x15063340995383>
- Jenni, L., Winkler, R., 2020. *Moult and Ageing of European Passerines*, 2<sup>nd</sup> edn. Bloomsbury Publishing.
- Jovani, R., Rohwer, S., 2017. Fault bars in bird feathers: mechanisms, and ecological and evolutionary causes and consequences. *Biol. Rev.* 92, 1113-1127. doi:10.1111/brv.12273
- Kajimura, S., Hirano, T., Visitation, N., Moriyama, S., Aida, K., Grau, E.G., 2003. Dual mode of cortisol action on GH/IGF-I/IGF binding proteins in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *J. Endocrinol.* 178, 91-99. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1780091>
- Kappeler, L., Filho, C.D.M., Dupont, J., Leneuve, P., Cervera, P., Périn, L., Loudes, C., Blaise, A., Klein, R., Epelbaum, J., Bouc, Y.L., Holzenberger, M., 2008. Brain IGF-1 Receptors Control Mammalian Growth and Lifespan through a Neuroendocrine Mechanism. *PLoS Biol.* 6, e254. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060254>
- Kenyon, C.J., 2010. The genetics of ageing. *Nature* 464, 504-512. <https://doi.org/10.1038/nature08980>
- Ketterson, E.D., Nolan, Jr.V., 1999. Adaptation, Exaptation, and Constraint: A Hormonal Perspective. *Am. Nat.* 154, S4-S25. <https://doi.org/10.1086/303280>
- Kiat, Y., Sapir, N., 2017. Age-dependent modulation of songbird summer feather moult by temporal and functional constraints. *Am. Nat.* 189, 184-195. doi:10.1086/690031
- Leili, S., Scanes, C.G., 1998. The Effects of Glucocorticoids [Dexamethasone] on Insulin-Like Growth Factor-I, IGF-Binding Proteins, and Growth in Chickens. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 218, 329-333. <https://doi.org/10.3181/00379727-218-44300>
- Lewin, N., Swanson, E.M., Williams, B.L., Holekamp, K.E., 2017. Juvenile concentrations of IGF-1 predict life-history trade-offs in a wild mammal. *Funct. Ecol.* 31, 894-902. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12808>
- Lodjak, J., Mänd, R., Mägi, M., 2018. Insulin-like growth factor 1 and life-history evolution of passerine birds. *Funct. Ecol.* 32, 313-323. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12993>
- Lodjak, J., Tilgar, V., Mägi, M., 2016. Does the interaction between glucocorticoids and insulin-like growth factor 1 predict nesting fitness in a wild passerine? *Gen. Comp. Endocrinol.* 225, 149-154. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.10.016>
- Martin, L.B., Liebl, A.L., Trotter, J.H., Richards, C.L., McCoy, K., McCoy, M.W., 2011. Integrator Networks: Illuminating the Black Box Linking Genotype and Phenotype. *Integr. Comp. Biol.* 51, 514-527. <https://doi.org/10.1093/icb/acr049>
- Mazzucco, H., McMurtry, J.P., Kuo, A.Y., Hester, P.Y., 2005. The effect of pre- and postmoult diets high in n-3 fatty acids and moult programs on skeletal integrity and insulin-like growth factor-1 of White Leghorns. *Poult. Sci.* 84, 1735-1749. doi:10.1093/ps/84.11.1735
- O'sullivan, U., Gluckman, P.D., Breier, B.H., Woodall, S., Siddiqui, R.A., McCutcheon, S.N., 1989. Insulin-like growth factor-1 (Igf-1) in mice reduces weight loss during starvation. *Endocrinol.* 125, 2793-2794. <https://doi.org/10.1210/endo-125-5-2793>

- Pap, P.L., Vágási, C.I., Czirják, G.Á., Barta, Z., 2008. Diet quality affects postnuptial moulting and feather quality of the house sparrow (*Passer domesticus*): interaction with humoral immune function? *Can. J. Zool.* 86, 834-842. doi:10.1139/Z08-060
- Peterson, B.C., Small, B.C., 2005. Effects of exogenous cortisol on the GH/IGF-I/IGFBP network in channel catfish. *Domest. Anim. Endocrinol.* 28, 391-404. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.01.003>
- Pettifor, R.A., Perrins, C.M., McCleery, R.H., 2001. The individual optimization of fitness: variation in reproductive output, including clutch size, mean nestling mass and offspring recruitment, in manipulated broods of great tits *Parus major*. *J. Anim. Ecol.* 70, 62-79. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2001.00465.x>
- Reindl, K.M., Sheridan, M.A., 2012. Peripheral regulation of the growth hormone-insulin-like growth factor system in fish and other vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 163, 231-245. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.08.003>
- Roff, D.A., Fairbairn, D.J., 2007. The evolution of trade-offs: where are we? *J. Evol. Biol.* 20, 433-447. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2006.01255.x>
- Rohwer, S., Ricklefs, R.E., Rohwer, V.G., Copple, M.M., 2009. Allometry of the Duration of Flight Feather moult in Birds. *PLoS Biol.* 7, e1000132. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000132>
- Romero, L.M., Reed, J.M., 2005. Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough? *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 140, 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.11.004>
- Romero, L.M., Reed, J.M., Wingfield, J.C., 2000. Effects of Weather on Corticosterone Responses in Wild Free-Living Passerine Birds. *Gen. Comp. Endocrinol.* 118, 113-122. <https://doi.org/10.1006/gcen.1999.7446>
- Sanz, J.J., Tinbergen, J.M., 1999. Energy expenditure, nestling age, and brood size: an experimental study of parental behavior in the great tit *Parus major*. *Behav. Ecol.* 10, 598-606. <https://doi.org/10.1093/beheco/10.5.598>
- Serra, L., Griggio, M., Licheri, D., Pilastro, A., 2007. Moults speed constrains the expression of a carotenoid-based sexual ornament. *J. Evol. Biol.* 20, 2028-2034. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01360.x>
- Sparkman, A.M., Byars, D., Ford, N.B., Bronikowski, A.M., 2010. The role of insulin-like growth factor-1 [IGF-1] in growth and reproduction in female brown house snakes (*Lamprophis fuliginosus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 168, 408-414. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.05.006>
- Sparkman, A.M., Vleck, C.M., Bronikowski, A.M., 2009. Evolutionary ecology of endocrine-mediated life-history variation in the garter snake *Thamnophis elegans*. *Ecology* 90, 720-728. <https://doi.org/10.1890/08-0850.1>
- Stearns, S.C., 2000. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. *Naturwissenschaften* 87, 476-486. <https://doi.org/10.1007/s001140050763>
- Stearns, Stephen C., 1993. *The Evolution of Life Histories.*, 2nd ed. Oxford University Press.
- Stearns, S.C., 1989. Trade-Offs in Life-History Evolution. *Funct. Ecol.* 3, 259-268. <https://doi.org/10.2307/2389364>
- Svensson, E., Merilä, J., 1996. moult and migratory condition in blue tits: a serological study. *Condor* 98, 825-831. <https://doi.org/10.2307/1369863>
- Vágási, C.I., Tóth, Z., Péntzes, J., Pap, P.L., Ouyang, J.Q., Lendvai, Á.Z., 2020. The Relationship between Hormones, Glucose, and Oxidative Damage Is Condition and Stress Dependent in a Free-Living Passerine Bird. *Phys. Biochem. Zool.* 93, 466-476. <https://doi.org/10.1086/711957>
- Vágási, C.I., Vincze, O., Pátraš, L., Osváth, G., Péntzes, J., Haussmann, M.F., Barta, Z., Pap, P.L., 2019. Longevity and life history coevolve with oxidative stress in birds. *Funct. Ecol.* 33, 152- 161. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13228>
- van Heemst, D., Beekman, M., Mooijaart, S.P., Heijmans, B.T., Brandt, B.W., Zwaan, B.J., Slagboom, P.E., Westendorp, R.G.J., 2005. Reduced insulin/IGF-1 signalling and human longevity. *Aging Cell* 4, 79-85. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2005.00148.x>
- Wang, G., Hardy, M., 2004. Development of Leydig cells in the insulin-like growth factor-I (IGF-I) knockout mouse: Effects of IGF-I replacement and gonadotropic stimulation. *Biol. Rep.* 70, 632-639. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.022590>
- Werner, E.E., Anholt, B.R., 1993. Ecological consequences of the trade-off between growth and mortality rates mediated by foraging activity. *Am. Nat.* 142, 242-272. doi:10.1086/285537

- Wilkinson, R.J., Porter, M., Woolcott, H., Longland, R., Carragher, J.F., 2006. Effects of aquaculture related stressors and nutritional restriction on circulating growth factors (GH, IGF-I and IGF-II) in Atlantic salmon and rainbow trout. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 145, 214-224. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.06.010>
- Williams, G.C., 1966. Natural Selection, the Costs of Reproduction, and a Refinement of Lack's Principle. *Am. Nat.* 100, 687-690.
- Wingfield, J.C., Maney, D.L., Breuner, C.W., Jacobs, J.D., Lynn, S., Ramenofsky, M., Richardson, R.D., 1998. Ecological Bases of Hormone—Behavior Interactions: The "Emergency Life History Stage." *Am. Zool.* 38, 191-206. <https://doi.org/10.1093/icb/38.1.191>
- Wirthgen, E., Kunze, M., Goumon, S., Walz, C., Höflich, C., Spitschak, M., Brenmoehl, J., Kanitz, E., Tuchscherer, M., Otten, W., Gimsa, U., Schön, P., Manteuffel, C., Tuchscherer, A., Pfuhl, R., Metges, C.C., Stabenow, B., Erdmann, S., Schluricke, K., Faucitano, L., Hoeflich, A., 2017. Interference of stress with the somatotrophic axis in pigs - lights - lights on new biomarkers. *Sci. Rep.* 7, 12055. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11521-5>
- Yearsley, J.M., Kyriazakis, I., Gordon, I.J., 2004. Delayed costs of growth and compensatory growth rates. *Funct. Ecol.* 18, 563-570. doi:10.1111/j.0269-8463.2004.00879.x
- Zera, A.J., Harshman, L.G., 2001. The Physiology of Life History Trade-Offs in Animals. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 32, 95-126. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114006>