

**„Czynniki wpływające na kondycję oraz parametry immunofizjologiczne  
arktycznego ptaka morskiego, alczyka (Alle alle)”  
Izabela Kulaszewicz**

W cyklu życiowym ptaków istnieje kilka etapów wymagających zwiększenia nakładów energetycznych organizmu, uważa się że jest to czas migracji, pierzenia oraz okres lęgowy. Rozród jest uważany za jeden z bardziej wymagających czasowo i energetycznie etapów cyklu rocznego u ptaków (Drent & Daan 1980; Walsberg 1983). Ptaki przystępujące do lęgów muszą zdobywać energię w celu zaspokojenia potrzeb związanych z podstawowymi potrzebami własnego organizmu, oraz dodatkowymi pojawiającymi się w trakcie sezonu lęgowego (zmiany hormonalne, produkcja jaja). Do energochłonnych potrzeb związanych z rozrodem można zaliczyć: obronę terytorium, znajdowanie partnera, inkubację jaja i opiekę nad pisklętami (szczególnie w przypadku gniazdowników). Dodatkowe zapotrzebowania energetyczne pokrywane są najczęściej dzięki zwiększeniu intensywności żerowania. Jeśli jednak zasoby pokarmowe są czynnikiem ograniczającym, uzasadnione jest założenie, że inwestycje w ich dodatkową eksploatację mogą ograniczyć dostępne środki energetyczne organizmu, jak dotąd wykorzystywane i inwestowane w obronę immunologiczną (Sheldon & Verhulst 1996) czy dogrzewanie lęgu (Moreno & Carlson 1989; Bryan & Bryant 1999). Ponieważ prawidłowe i efektywne funkcjonowanie systemu immunologicznego odgrywa znaczącą rolę, jako środek obrony organizmu przed zakażeniem patogenami oraz pasożytami (Roitt et al. 1998), obniżenie immunokompetencji najczęściej skutkuje obniżeniem dostosowania osobnika. Fakt, że funkcjonowanie układu immunologicznego jest energochłonne został wielokrotnie udowodniony (Råberg et al. 1998). Również krótkoterminowe obniżenie dostępności pokarmu, czego efektem jest zmniejszenie ilości zdobywanego pokarmu może skutkować obniżeniem immunokompetencji (Klasing 1988). Dodatkowo zmniejszenie zasobów bazy pokarmowej może wydłużać czas przebywania osobnika dorosłego na żerowisku co może przekładać się na wystawienie pisklęcia na działanie niekorzystnych warunków środowiskowych (niskiej temperatury) przez dłuższy czas (Kidawa et al. 2011). Gniazdowanie w regionach polarnych oznacza również wyzwania energetyczne dla ptasiego organizmu wynikające z niskich temperatur, silnych wiatrów oraz krótkich okien fenologicznych okresu rozrodczego. Warunki meteorologiczne mogą bezpośrednio wpływać na potomstwo, zwłaszcza w przypadku gatunków, których pisklęta rozwijają pełną termoregulację dopiero kilka dni po wylęgu (Krijgsveld et al. 2003; Tortosa & Castro 2003). Wzrost i rozwój ptaków są silnie zależne od temperatury (Gillooly et al. 2002). U kilku gatunków stwierdzono, że przedłużona ekspozycja na wyziębienie zmniejsza tempo rozwoju (Tazawa et al. 1989), przedłuża okres inkubacji (Lyon & Montgomerie 1985) i może negatywnie wpływać na wzrost po wykluciu (Sockman & Schwabl 1998).

Inwestycje rodzicielskie to wydatki (w postaci czasu, energii itp.) ponoszone przez danego osobnika rodzicielskiego, które podnoszą szansę przeżycia jego potomstwa,

jednocześnie mogą obniżyć kondycję i przeżywalność rodzica (Trivers 1972). W układzie gdzie oba ptaki z pary uczestniczą w opiece nad potomstwem (inkubacja i karmienie piskląt), wysiłek reprodukcyjny obojga partnerów może być różny zarówno pod względem zakresu jak i charakteru wykonywanych obowiązków. Ptaki morskie ze względu na wysokie koszty zdobywania pokarmu i jego transportu do gniazda stosują monogamiczny system rozrodczy, z podobnym udziałem obydwu płci w opiece nad lęgiem (Gowaty 1996). Ich cechą charakterystyczną jest długowieczność, długi okres rozwoju osobniczego, niewielka liczba jaj w lęgu (1-3) i wydłużona opieka rodzicielska (Ricklefs 1990). Roczny sukces rozrodczy jest zatem, mimo udziału obojga rodziców, niewielki. Taka strategia pozwala jednak zachować obojgu rodzicom dobrą kondycję i rezerwy energetyczne na kolejny sezon lęgowy. Dodatkowo ptaki morskie cechuje niski stopień ojcostwa poza parą (Quillfeldt et al. 2001; Wojczulanis-Jakubas et al. 2009). Ze względu na te wszystkie cechy, ptaki morskie stanowią niezwykle interesującą grupę w kontekście badań nad mechanizmami sterującymi parametrami hematologicznymi i biochemicznymi krwi podczas sezonu lęgowego u każdej z płci.

Wybór alczyka (*Alle alle*) jako obiektu badań związany jest z jego strategią życiową specyficznym miejscem rozrodu (nory gniazdowe w rumoszu skalnym w klimacie z niskimi temperaturami) oraz możliwością zgromadzenia wystarczającego materiału do badań (kolonie lęgowe o dużych liczebnościach przy stosunkowo łatwym dostępie do gniazd). Alczyk gniazduje wyłącznie w Arktyce Wysokiej, jest monogamicznym, kolonijnym oraz długowiecznym ptakiem morskim realizującym opiekę rodzicielską przez obojga partnerów. Oboje rodzice zajmują się inkubacją jaja, ogrzewaniem i karmieniem pisklęcia. Alczyk składa tylko jedno jajo rocznie (Wojczulanis-Jakubas et al. 2009). Jakość potomstwa jest więc ważnym elementem wpływającym na parametry demograficzne populacji. Zatem osobniki dorosłe powinny maksymalizować inwestycje rodzicielskie w celu efektywnego wychowania oraz posiadania potomstwa o jak najlepszych cechach. Fakt gniazdowania alczyka w rejonach podbiegunowych pozwala także przeanalizować wpływ warunków środowiskowych (niskiej temperatury powietrza) na rozwój piskląt.

Śledzenie parametrów immunofizjologicznych w kolejnych fazach okresu lęgowego daje możliwość badania śledzenia kompromisów (*trade-offs*) pomiędzy inwestowaniem w rozród oraz utrzymaniem własnej równowagi oksydacyjnej czy immunologicznej u osobników rodzicielskich. Istnieją badania potwierdzające obniżoną immunokompetencję osobników w warunkach niskiej dostępności pokarmu; musiały one zwiększyć swoje wydatki energetyczne w celu wykarmienia młodych (Norris & Evans 1999). Zgodnie z hipotezą „o oksydacyjnym koszcie reprodukcji” (Alonso-Alvarez et al. 2004) zasoby alokowane w celu wykorzystania w czasie reprodukcji nie są już dostępne i możliwe do użycia do ochrony przed stresem oksydacyjnym (Wiersma et al. 2004; Alonso-Alvarez et al. 2004; Costantini et al. 2016). Dowodem potwierdzającym ta hipotezę są m.in. zeberki (*Taeniopygia guttata*) u których po sztucznym zwiększeniu wysiłku reprodukcyjnego (zwiększona liczba piskląt

w łągu) wzrost poziom antyoksydantów we krwi (Alonso-Alvarez et al. 2004). Badania nad alokacją zasobów wskazują również na osłabienie immunokompetencji oraz zmniejszenie tempa wzrostu u embrionów/piskląt wystawionych na długotrwałe działanie niskich temperatur otoczenia zarówno w czasie inkubacji jak i w okresie przed osiągnięciem zdolności do pełnej termoregulacji (Mujahid & Mitsuhiro 2009; Durant et al. 2012).

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej jest przeanalizowanie czynników wpływających na kondycję oraz parametry immunofizjologiczne alczyka. Skupiłam się na trzech zagadnieniach:

- 1) analizie zależności między reprodukcją a funkcjami samozachowawczymi organizmu (odpowiedzią immunologiczną na zakażenie bakteryjne oraz masą ciała);
- 2) oznaczeniem poziomu stresu oksydacyjnego w odniesieniu do etapu sezonu łągowego i płci, oraz jego wpływu na profile leukocytarne;
- 3) porównaniem temperatury zewnętrznej oraz temperatury w norach gniazdowych oraz ich wpływu na rozwój piskląt alczyka.

Odpowiednio sformułowałam m.in. następujące hipotezy:

- 1) immunokompetencja organizmu, badana na podstawie poziomu odpowiedzi immunologicznej na zakażenie bakteryjne, współczynnika H/L oraz liczby leukocytów na 10 000 czerwonych krwinek będzie maleć wraz z zaawansowaniem sezonu rozrodczego (narastającymi inwestycjami rodzicielskimi); osobniki o wyższej masie ciała będą charakteryzować się wyższą immunokompetencją (wyższą wartością odpowiedzi immunologicznej na zakażenie bakteryjne, niższym współczynnikiem H/L); samice z racji wcześniejszego opuszczenia łągu mogą posiadać niższą immunokompetencję oraz masę ciała niż samce;
- 2) ze względu na wzrost wydatków rodzicielskich wraz z upływem sezonu łągowego poziom stresu oksydacyjnego będzie najniższy podczas inkubacji a najwyższy podczas karmienia piskląt; jedną z przyczyn wcześniejszego opuszczenia łągu przez samice może być jej gorsza kondycja przejawiająca się wyższym poziomem stresu oksydacyjnego; poziom stresu oksydacyjnego będzie pozytywnie skorelowany z współczynnikiem H/L, liczbą heterofili na 10 000 czerwonych krwinek (rosnącą podczas stresu czy przewlekłej infekcji bakteryjnej) oraz liczbą limfocytów na 10 000 czerwonych krwinek (mobilizacja układu Immunologicznego);
- 3) różne położenie gniazd (wysokość n.p.m.) będzie wpływało na zmienność ich wewnętrznej temperatury; nory gniazdowe będą charakteryzować się bardziej stabilną temperatura w porównaniu do zarejestrowanej na zewnątrz; pisklęta z gniazd zimniejszych będą rozwijały się wolniej ze względu na wyższe koszty utrzymania termoregulacji oraz będą kluć się później.

## **Metodyka**

- Prace terenowe

Prace terenowe prowadzone były w kolonii alczyków w Horsundzie (południowo-zachodni Spitsbergen), w trzech sezonach badawczych: 2013, 2014, 2015 (czerwiec-sierpień). Kolonia ta jest jednym z większych skupisk alczyka na Spitsbergenie (Isaksen 1995), co zapewnia reprezentatywność badanej populacji jaki i gwarantuje możliwość uzyskania odpowiedniej wielkości próby (liczby ptaków) do analiz statystycznych.

Następujące parametry morfologiczne i immunofizjologiczne ptaków dorosłych zostały przebadane:

- Parametry immunofizjologiczne/biochemiczne

**Odpowiedz immunologiczna na zakażenie bakteriami** Aktywność bakteriobójcza krwi ptaków obejmuje wiele składników wrodzonego układu odpornościowego, w tym przeciwciała, białka dopełniacza i lizozym. Jest ona uważana za wskaźnik odporności wrodzonej (Merchant et al. 2005). Obecność rozpuszczalnych białek w osoczu krwi odgrywa również kluczową rolę w ograniczaniu infekcji. Przeciwciała tworzą cząsteczki o możliwościach niespecyficzne detekcji zakażenia oraz mają możliwość ograniczenia infekcji drobnoustrojowej (Ochsenbein et al. 1999). Do celów niniejszych badań zostały użyte szczepy bakterii *Escherichia coli* ATCC8739 reprezentujące grupę bakterii gram-ujemnych. Ten rodzaj mikroorganizmów został wybrany głównie ze względu na powszechność ich występowania oraz aby tym samym zminimalizować możliwość błędnej interpretacji odpowiedzi immunologicznej na występowanie mniej powszechnych antygenów. Uważa się, że do eliminacji *E. coli* organizm aktywuje, głównie występującą w osoczu, kaskadę dopełniaczy (Millet et al. 2007).

**Stres oksydacyjny.** Poziom stresu oksydacyjnego określa się jako stosunek zawartości reaktywnych metabolitów tlenu (ROM) do przeciwutleniaczy (OXY) ( $\times 1\ 000$ ) w osoczu krwi (Barja 2004). Stres oksydacyjny pojawia się, gdy produkcja reaktywnych form tlenu (ROM), przekracza możliwości antyoksydacyjne organizmu (Cadenas & Davies 2000). ROM są produktem ubocznym łańcuchów oddechowych i stanowią 0,1-4,0% cząsteczek tlenu zużytego podczas oddychania (Cadenas & Davies 2000). Są to niestabilne związki, które mogą uszkodzić: DNA, białka, lipidy, osłabić ekspresję genów, funkcjonowanie tkanek, a ostatecznie wpłynąć negatywnie na sukces reprodukcyjny i żywotność organizmu. Mogą bezpośrednio doprowadzić do uszkodzenia układu rozrodczego lub obniżyć jakość plemników i oocytów. Alternatywnie, ROM mogą poprzez spowodowane uszkodzenia osłabić system somatyczny rodziców a w konsekwencji obniżyć ich fizjologiczną lub fizyczną zdolność do opieki nad potomstwem i wytrzymałość na warunki środowiska. W dłuższej perspektywie, nagromadzenie ROM może przyczynić się do stopniowego pogorszenia funkcjonowania wszystkich narządów i śmierci (Barja 2004). W związku z tym różnice w podatności na stres oksydacyjny mogą stanowić przetrwanie i płodności osobnika. Ponieważ reprodukcja jest energetycznie wymagającym okresem, który

zwiększa obciążenie metaboliczne (Nilsson et al. 2007) oraz, w konsekwencji produkcję ROM, osobniki z wysokim poziomem odporności na stres oksydacyjny mogą lepiej znosić koszty organizmu związane z reprodukcją.

**Profile leukocytów** Względna liczba różnych rodzajów leukocytów występujących we krwi obwodowej, to często stosowana miara właściwości układu odpornościowego (Davis 2005; Salvante 2006). Podwyższona całkowita liczba leukocytów oznacza odpowiedź na procesy zapalne wywołane zarówno z przyczyn mikrobiologicznych jak i przez zakażenie pasożytami wewnętrznymi (np. Dein 1986). Limfocyty i heterofile stanowią większość (prawie 80%) leukocytów w krwi obwodowej ptaków (Campbell 1995). Limfocyty biorą udział w odpowiedzi immunologicznej w walce z patogenami a ich wzrost można również zaobserwować przy infekcjach pasożytniczych (Ots & Horak 1998). Heterofile są to komórki ze zdolnością fagocytozy wchodzące do tkanek podczas stanów zapalnych; są szczególnie wrażliwe na infekcje mikrobiologiczne (Campbell 1995). Zwiększają one swoją liczbę podczas stresu, traumy i przewlekłej infekcji bakteryjnej. Stosunek heterofili do limfocytów (H/L) jest często stosowany jako wskaźnik stresu u ptaków (Bonier et al. 2007; Davis 2005). Pozostałe 20% leukocytów reprezentują trzy grupy białych krwinek. Dane na temat zmiany liczebności leukocytów we krwi zostały zbadane na podstawie zliczenia liczby białych krwinek na 10 000 erytrocytów. Umożliwia to odnotowanie zmian bezwzględnej liczby leukocytów a nie tylko proporcji – dzięki czemu pozwala wnioskować o immunosupresji (Moreno et al. 2002).

- Wzrost piskląt

Przedłużona ekspozycja na zimno może zmniejszyć tempo rozwoju (Tazawa et al. 1989), przedłużyć okres trwania inkubacji (Lyon & Montgomerie 1985) i może negatywnie wpływać na wzrost pisklęcia po wykluciu (Sockman & Schwabl 1998). Zmiany w temperaturze otoczenia były wcześniej związane z różnicami w sukcesie rozrodczym ptaków morskich (Konarzewski & Taylor 1989; Skinner et al. 1998). W celu utrzymania temperatury w zakresie optymalnym dla rozwoju embrionów/piskląt, ptaki muszą wysiadywać jaja /dogrzewać świeżo wyklute pisklęta. Dlatego jakość gniazda i jego lokalizacja jest uważana za ważny czynnik obniżający koszty energetyczne rozwoju piskląt (Furness & Bryant 1996).

## Wyniki

- Zależność między reprodukcją a funkcjami samozachowawczymi organizmu (działaniem układu immunologicznego oraz masą ciała) u dorosłych alczyków (praca nr 1)

Poziom aktywności bakteriobójczej osocza dorosłych alczyków był zależny od fazy sezonu lęgowego. Ptaki charakteryzowały się wyższą aktywnością bakteriobójczą osocza w początkowych fazach sezonu lęgowego (przed złożeniem jaja oraz w na początku

inkubacji) w porównaniu do etapów późniejszych (koniec inkubacji oraz karmienie piskląt). Wpływ na poziom aktywności bakteriobójczej osocza miała również masa ciała ptaków. Osobniki z wyższym indeksem masy ciała posiadały wyższą aktywność bakteriobójczą.

Stosunek H/L (współczynnik stresu hematologicznego) był zależny od fazy sezonu lęgowego oraz indeksu masy ciała lecz także od płci oraz interakcji pomiędzy płcią a fazą sezonu. Wyższe wartości współczynnika H/L występowały na początku sezonu lęgowego w porównaniu do późniejszych faz u obydwóch płci. W okresie przed złożeniem jaja współczynnik H/L u samców był wyższy niż u samic.

Kolejnym wskaźnikiem zależnym od fazy sezonu lęgowego była liczba krwinek w przeliczeniu na 10 000 erytrocytów. Liczba wszystkich trzech grup krwinek (leukocyty, heterofile, limfocyty) była wyższa na początku sezonu lęgowego w porównaniu z końcowymi fazami. Podczas okresu przed złożeniem jaja samce miały istotnie wyższą liczbę heterofili na 10 000 czerwonych krwinek w porównaniu z samicami.

Indeks masy ciała ptaków był także zależny od fazy sezonu lęgowego. Osobniki w początkowych fazach sezonu miały wyższy indeks masy ciała w porównaniu z jego końcowymi etapami.

Poziom aktywności bakteriologicznej osocza wzrastał wraz ze wzrostem wartości współczynnika H/L, indeksu masy ciała oraz liczbą heterofili i leukocytów na 10 000 czerwonych krwinek.

- Równowaga oksydacyjna organizmu zależna od fazy sezonu lęgowego u dorosłych alczyków (praca nr 2)

Poziom stresu oksydacyjnego u dorosłych alczyków był zależny od fazy sezonu lęgowego. Podczas inkubacji ptaki posiadały wyższy poziom stresu oksydacyjnego w porównaniu do okresu karmienia piskląt. Indeks masy ciała nie wpływał na wartości stresu oksydacyjnego.

Zawartość przeciwutleniaczy (OXY) oraz reaktywnych metabolitów tlenu (ROM) również zmieniała się wraz z postępem sezonu lęgowego. Ilość OXY wzrasta się wraz z postępem sezonu lęgowego. W czasie inkubacji stwierdzono niższe stężenie OXY w porównaniu do okresu pisklęcego. Odwrotna tendencja dotyczyła ROM z istotnie wyższymi wartościami odnotowanymi w czasie inkubacji. Podobnie jak w przypadku stresu oksydacyjnego, również tu indeks masy ciała nie wpływał na wartości ROM i OXY.

Wartości stresu oksydacyjnego oraz stężenia ROM były pozytywnie skorelowane ze współczynnikiem H/L. Odwrotny wzorzec odnotowano dla stężenia OXY malejącego wraz z rosnącymi wartościami współczynnika H/L. Poziom stresu oksydacyjnego oraz stężenie ROM rosło wraz z rosnącą liczbą leukocytów i limfocytów na 10 000 czerwonych krwinek. Stężenie OXY przejawiało przeciwny wzorzec rosnąc wraz z malejącą liczbą leukocytów i limfocytów na 10 000 czerwonych krwinek.

- Wpływ mikroklimatu nor gniazdowych na wzrost piskląt alczyka (praca nr 3)

Nory gniazdowe są dobrze odizolowane od warunków zewnętrznych, mając w cyklu dobowym stabilniejszą i wyższą średnią temperaturę. W norach gniazdowych o wyższej średniej temperaturze pisklęta w wieku 15-18 dni osiągały wyższe wartości współczynnika wzrostu długości całkowitej głowy oraz masy ciała. Taki sam trend zaobserwowano w przypadku współczynnika wzrostu obliczonego na podstawie długości całkowitej głowy w drugim cyklu pomiarowym w wieku piskląt 21-24 dni. Podczas pierwszej tury pomiarów (15-18 dzień życia) wzrost średniej temperatury gniazda o 1°C skutkował różnicami w wzroście długości całkowitej głowy i masy ciała rzędu 0,81 mm oraz 0,77 g na dzień. Nie stwierdzono zależności pomiędzy średnią temperaturą gniazda a datą klucia piskląt. Inne, nie badane, czynniki mogą również istotnie modyfikować tempo wzrostu piskląt, lecz zważywszy na ich rozwój na granicy neutralnej temperatury, wpływ temperatury nory gniazdowej wydaje się być znaczący.

## **Podsumowanie**

Wysiłek reprodukcyjny ptaków rodzicielskich wpływał na ich kondycję zarówno w aspekcie obrony immunologicznej przed zakażeniami bakteryjnymi, profili leukocytarnych, indeksu masy ciała jak i poziomie stresu oksydacyjnego. Kondycja zarówno samców jak i samic malała wraz z postępem sezonu lęgowego (spadek masy ciała, zmniejszenie odporności osocza na zakażenie bakteryjne). Początek sezonu lęgowego wiązał się z osiągnięciem wysokich wartości stresu oksydacyjnego jaki i współczynnika H/L. Wynik ten sugeruje wzrost mobilizacji organizmu oraz wzmożony wysiłek energetyczny z jakim muszą się mierzyć osobniki dorosłe przystępujące do lęgów. Alokacja zasobów nakierowana na pokrycie wydatków reprodukcyjnych okazała się działać negatywnie na kondycję ptaków rodzicielskich.

W przypadku piskląt wykazano istotny wpływ temperatury wewnętrznej gniazda na ich tempo rozwoju. Pisklęta z gniazd o wyższych temperaturach charakteryzowały się szybszym tempem rozwoju co może sugerować przeznaczenie większych zasobów energii na wzrost niż na utrzymywanie temperatury ciała jak w przypadku lęgów z gniazd o niższych temperaturach.

Realizacja niniejszego projektu stanowiącego moją rozprawę doktorską przybliżyła jak dotąd słabo poznane mechanizmy sterujące siłą odpowiedzi immunofizjologicznej na przestrzeni dłuższego i kosztownego energetycznie okresu, jakim jest okres lęgowy. Zależności między inwestycjami rodzicielskimi podczas okresu lęgowego a siłą odpowiedzi immunologicznej na zakażenie bakteryjne zostały opisane jak dotąd u niewielu gatunków ptaków morskich. Projekt dostarczył również danych o takich parametrach jak poziom stresu oksydacyjnego które nigdy wcześniej nie były badane u tego gatunku. Dodatkowo przedstawił zależność pomiędzy temperaturą gniazd a wzrostem piskląt, czynnikiem jakże

ważnym w klimacie Arktyki o temperaturach wahających się na granicy strefy termoneutralnej dla alczyka.

Niniejsze badania mogą być interpretowane w szerszym kontekście np. wpływu nakładów rodzicielskich na kondycję immunofizjologiczną ptaków o niskiej rocznej zdolności reprodukcyjnej.

## Literatura

- Alonso-Alvarez C., Bertrand S., Devevey G., Prost J., Faivre B. & Sorci G. 2004. Increased susceptibility to oxidative stress as a proximate cost of reproduction. *Ecology Letters* 7: 363–368.
- Barja G. 2004. Free radicals and aging. *Trends in Neurosciences* 27: 595–600.
- Bonier F., Martin P. R., Sheldon K. S., Jensen J. P., Foltz S. L. & Wingfield J. C. 2007. Sex-specific consequences of life in the city. *Behavioral Ecology* 18: 121–129.
- Bryan, S. M. & Bryant, D. M. 1999. Heating nest-boxes reveals an energetic constraint on incubation behaviour in great tits, *Parus major*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 266: 157–162.
- Cadenas E. & Davies K. J. 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging 1. *Free Radical Biology and Medicine* 29: 222–230.
- Campbell T. W. 1995. *Avian Hematology and Cytology*. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Costantini D., Casasole G., AbdElgawad H., Asard H. & Eens M. 2016. Experimental evidence that oxidative stress influences reproductive decisions. *Functional Ecology* 30: 1169–1174.
- Davis A. K. 2005. Effects of handling time and repeated sampling on avian white blood cell counts. *Journal of Field Ornithology* 76: 334–338.
- Dein, J. 1986. Hematology. *Clinical avian medicine*. Saunders, London, p. 174–191
- Drent R. H. & Daan S. 1980. The prudent parent: energetic adjustments in avian breeding. *Ardea* 68: 225–252.
- Durant S. E., Hepp G. R., Moore I. T., Hopkins B. C. & Hopkins W. A. 2010 Slight differences in incubation temperature affect early growth and stress endocrinology of wood duck (*Aix sponsa*) ducklings. *Journal of Experimental Biology* 213: 45–51.
- Furness R. W. & Bryant D. M. 1996. Effect of wind on field metabolic rates of breeding northern fulmars. *Ecology* 77: 1181–1188.
- Gillooly J. F., Charnov E. L., West G. B., Savage V. M. & Brown J. H. 2002. Effects of size and temperature on developmental time. *Nature* 417: 70–73.
- Gowaty P. A. 1996. *Partnerships in Birds: The Study of Monogamy*. The Study of Monogamy Oxford University Press, New York.
- Isaksen K. 1995. The breeding population of little auk (*Alle alle*) in colonies in Hornsund and northwestern Spitsbergen. Seabird population in the northern Barents Sea. *Meddelelser* 135: 49–57.
- Kidawa D., Jakubas D., Wojczulanis-Jakubas K., Iliszko L. & Stempniewicz L. 2011. The effects of loggers on the foraging effort and chick-rearing ability of parent little auks. *Polar Biology* 35: 909–917.



- Klasing K. C. 1988. Influence of acute feed deprivation or excess food intake on immuno-competence of broiler chicks. *Poultry Science* 67:626–634.
- Konarzewski M. & Taylor J. R. 1989. The influence of weather conditions on growth of Little Auk *Alle alle* chicks. *Ornis Scandinavica* 20: 112–116.
- Krijgsveld K. L., Reneerkens J. W., McNett G. D. & Ricklefs R. E. 2003. Time budgets and body temperatures of American Golden-Plover chicks in relation to ambient temperature. *Condor* 105: 268–278.
- Lyon B. E. & Montgomerie R. D. 1985. Incubation feeding in snow buntings: female manipulation or indirect parental care? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 17, 279–284
- Merchant M. E., Pallansch M., Paulman R. L., Wells J. B., Nalca A. & Ptak R. 2005. Antiviral activity of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). – *Antiviral Research* 66: 35–38.
- Millet S., Bennett J., Lee K. A., Hau M. & Klasing K. C. 2007. Quantifying and comparing constitutive immunity across avian species. – *Develop. Comp. Immunol.* 31: 188–201.
- Moreno, J. & Carlson, A. 1989 Clutch size and the costs of incubation in the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca*. *Ornis Scandinavica* 20: 123–128.
- Moreno J., Merino S., Sanz J. & Arriero E. 2002. An indicator of maternal stress is correlated with nestling growth in pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *Avian Science* 2: 175–182.
- Mujahid A. & Furuse M. 2009. Oxidative damage in different tissues of neonatal chicks exposed to low environmental temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 152: 604–608.
- Nilsson J. Å., Granbom M. & Råberg L. 2007. Does the strength of an immune response reflect its energetic cost?. *Journal of Avian Biology* 38: 488–494.
- Norris K. & Evans M. R. 1999. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology* 11: 19–26.
- Ochsenbein A. F., Fehr T., Lutz C., Suter M., Brombacher F., Hengartner H. & Zinkernagel R. M. 1999. Control of early viral and bacterial distribution and disease by natural antibodies. – *Science* 286: 2156–2159.
- Ots I. & Hõrak P. 1998. Health impact of blood parasites in breeding great tits. *Oecologia* 116: 441–448.
- Quillfeldt P., Schmoll T., Peter H. U., Epplen J. T. & Lubjuhn T. 2001. Genetic monogamy in Wilson's storm-petrel. *The Auk* 118: 242–248.
- Råberg L., Grahn M., Hasselquist D. & Svensson E. 1998. On the adaptive significance of stress induced immunosuppression. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B* 265: 1637–1641.
- Ricklefs R. E. 1990. Seabird life histories and the marine environment: some speculations. *Colonial Waterbirds*: 1–6.
- Roitt I. M., Brostoff J. & Male D. K. 1998. *Immunology*. London: Mosby.
- Salvante K. G. 2006. Techniques for studying integrated immune function in birds. *The Auk* 123: 575–586.
- Sheldon B.C. & Verhulst S. 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 11: 317–321.

- Skinner W. R., Jefferies R. L., Carleton T. J., Rockwell R. F. & Abraham K. F. 1998. Prediction of reproductive success and failure in lesser snow geese based on early season climatic variables. *Global Change Biology* 4: 3–16.
- Sockman K. W. & Schwabl H. 1998. Hypothermic tolerance in an embryonic American kestrel (*Falco sparverius*). *Canadian Journal of Zoology* 76: 1399–1402.
- Tazawa H., Okuda A., Nakazawa S. & Whittow G. C. 1989. Metabolic responses of chicken embryos to graded, prolonged alterations in ambient temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology* 92: 613–617.
- Tortosa F. S. & Castro F. 2003. Development of thermoregulatory ability during ontogeny in the white stork *Ciconia ciconia*. *Ardeola* 50: 39–45.
- Trivers R. 1972. Parental investment and sexual selection. Aldine Publishing Company. Chicago.
- Walsberg G. E. 1983. Avian ecological energetics. *Avian biology*. Academic press. London.
- Webb D. R. 1987. Thermal tolerance of avian embryos: a review. *Condor* 89: 874–898.
- Wiersma P., Selman C., Speakman J. R. & Verhulst S. 2004. Birds sacrifice oxidative protection for reproduction. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 271 (Suppl 5): S360–S363.
- Wojczulanis-Jakubas K., Jakubas D. & Stempniewicz L. 2009. Sex-specific parental care by incubating Little Auks (*Alle alle*). *Ornis Fenica* 86: 01–08.