

Proporcja liczby heterofili do limfocytów jako wskaźnik stresu u ptaków

Joanna Skwarska

W badaniach nad ptakami coraz szerzej stosowane są analizy krwi będące podstawą do uzyskania wskaźników hematologicznych użytecznych w badaniach ekologicznych (Davis et al. 2008). Do najczęściej stosowanych wskaźników hematologicznych, których przydatność została wielokrotnie potwierdzona, zalicza się: zawartość hemoglobiny, hematokryt, liczbę i średnią objętość erytrocytów (MCV), liczbę i wzajemne proporcje różnych form leukocytów, w tym proporcję heterofili do limfocytów – H:L (Ots et al. 1998, Bearhop et al. 1999, O'Brien et al. 2001, Lobato et al. 2005, Nadolski et al. 2006).

Wiele wartościowych parametrów hematologicznych i biochemicznych jest w przypadku dzikich ptaków trudna do uzyskania. Spowodowane jest to trudnością w pobraniu odpowiedniej porcji krwi, która pozwoliłaby ocenić istotne dla analiz wskaźniki. W przypadku przeprowadzania badań na małych ptakach, np. wróblowych *Passeriformes*, istnieje możliwość pozyskania tylko niewielkiej próbki krwi tak, aby jej utrata nie spowodowała śmierci osobnika. Przyjmuje się, że jednorazowo można pobrać taką objętość krwi, która nie przekracza 1% masy ciała ptaka albo 2% masy, ale nie częściej niż w okresie 2 tygodni (McGuill & Rowan 1989, Fair et al. 2010). Wykonanie rozmazu krwi umożliwiającego po wybarwieniu policzenie leukocytów i późniejsze wyliczenie stosunku H:L wymaga pobrania niewielkiej objętości krwi (jedna kropla) (Ots et al. 1998).

Celem tej pracy jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat zmian proporcji heterofili i limfocytów jako wskaźnika stresu u ptaków. Omówiono również wybrane czynniki ekologiczne i fizjologiczne wpływające na proporcję H:L.

Podłoże zmian proporcji heterofili do limfocytów

Odpowiedzią na chroniczny stres u kręgowców jest zmiana liczby i względnych częstości leukocytów we krwi (Davis et al. 2008). Głównymi typami leukocytów są limfocyty, monocyty, makrofagi i granulocyty: obojętnochłonne (neutrofile u ssaków, heterofile u ptaków i gadów), zasadochłonne (bazofile) i kwasochłonne (eozynofile) (Lucas & Jamroz 1961, Hawkey & Dennett 1989, Jain 1993, Harmon 1998, Dembińska-Kieć & Naskalski 2002, Davison et al. 2008).

Najliczniejszymi leukocytami u ptaków są heterofile i limfocyty (Davis et al. 2008). Heterofile biorą udział w reakcjach odporności nieswoistej i, podobnie jak neutrofile u ssaków, wykazują właściwości chemotaksji oraz fagocytozy (Buczek et al. 1999, Dembińska-Kieć & Naskalski 2002). Są one niespecyficznymi komórkami, które proliferują do tkanek podczas odpowiedzi organizmu na procesy zapalne toczące się w ustroju (Maxwell 1993, Jurd 1994, Maxwell & Robertson 1998, Ots et al. 1998). Liczba tych granulocytów wzrasta w odpowiedzi na długotrwałe infekcje bakteryjne i grzybicze oraz nieprawidłowości związane z dietą i stresem (Gross & Siegel 1983, Dein 1986, Maxwell & Robertson 1998). Komórki te należą do pierwszej linii obrony przeciw drobnoustrojom zlokalizowanym w płucach i w workach

powietrznych (nieposiadających makrofagów) (Toth & Siegel 1986, Ficken & Barnes 1989, Harmon 1998). U dorosłych ptaków domowych i przetrzymywanych w niewoli, w 1 ml krwi liczba heterofili waha się w granicach 3000–12 000, co stanowi 40–75% ogólnej liczby leukocytów we krwi (Buczek et al. 1999). Z kolei limfocyty są leukocytami biorącymi udział w reakcjach odporności nabytej, uczestniczą we wszystkich rodzajach odpowiedzi odpornościowej organizmu. U ptaków reprezentują najliczniejszą grupę komórek układu immunologicznego, stanowią od 20 do 50% wszystkich białych ciałek krwi. Limfocyty specjalizują się w rozpoznawaniu i niszczeniu licznych patogenów (Buczek et al. 1999). Wzrost liczby tych komórek jest charakterystyczny w długotrwałych infekcjach bakteryjnych, zakażeniach pasożytniczych oraz limfoidalnych leukemiach, zaś ich spadek występuje przy immunosupresji, ostrych infekcjach wirusowych oraz stresie (Maxwell 1993, Campbell 1995, Siegel 1995, Feldman et al. 2000, Samour 2000, Bonier et al. 2007). Wartości referencyjne dotyczące liczby heterofili i limfocytów u dziko żyjących ptaków można znaleźć w ogólnodostępnej bazie danych (<http://wildlifehematology.uga.edu>).

Uważa się, że proporcja heterofili do limfocytów (H:L) pozwala w prosty sposób oszacować sprawność układu odpornościowego i indywidualny stan zdrowia ptaków (Dufva & Allander 1996, Ots & Hórák 1996, Dubiec 2000). Ponadto proporcja ta uznawana jest za wiarygodny wskaźnik poziomu stresu u ptaków, umożliwiający przede wszystkim ocenę/określenie odpowiedzi organizmu na stres wywołany przez otaczające środowisko (Driver 1981, Gross & Siegel 1983, Maxwell 1993, Aguirre et al. 1995, Hórák et al. 1998, Ruiz et al. 2002, Sergent et al. 2004, Davis et al. 2008). Poziom stresu nie tylko manifestowany jest przez wzrastającą liczbę heterofili (Jain 1986, Campbell 1995, Rupley 1997, Harmon 1998), ale również przez spadek liczby limfocytów (Krams et al. 2011). Zostało to udowodnione zarówno w badaniach na drobiu, jak i na ptakach dziko żyjących, w tym u dorosłych wróblowych oraz ich piskląt (tab. 1 i 2).

Hormonalnym mediatorem reakcji stresowej w ustroju jest kortykosteron, który może być wykorzystywany zarówno jako wskaźnik zachodzenia tej reakcji, jak i niezależny czynnik eksperymentalny indukujący ją (El Lethy et al. 2003, Shini et al. 2008, 2009, Müller et al. 2011). Wzrost poziomu kortykosteronu w organizmie, jako odpowiedź na niedobory pokarmowe, wiąże się ze wzrostem proporcji H:L (Morici et al. 1997, Post et al. 2003). U wielu ptaków, np. u pingwina białookiego *Pygoscelis adeliae*, zaobserwowano w okresie głodowania dodatnią korelację między liczbą heterofili a poziomem tego glukokortykoidu we krwi (Vleck et al. 2000).

Określenie bazowego poziomu kortykosteronu, szczególnie u ptaków dziko żyjących, jest trudne technicznie. Stwierdzono, że poziom tego hormonu ulega gwałtownemu wzrostowi bezpośrednio po dwóch – trzech minutach od momentu schwytania ptaka, jako odpowiedź organizmu na czynnik stresowy (Schwabl et al. 1991, Le Maho et al. 1992, Hood et al. 1998, Romero & Reed 2005). Zjawisko to utrudnia zatem ustalenie podstawowego stężenia kortykosteronu w warunkach pracy terenowej, nie zakłócając przy tym określenia wiarygodnej proporcji heterofili do limfocytów (wzrost proporcji leukocytów następuje po upływie około godziny) (Davis 2005). Wzrost proporcji H:L we krwi jest efektem wcześniejszego podwyższenia poziomu kortykosteronu jako odpowiedzi na reakcję stresową. Stosunek heterofili do limfocytów u ptaków wydaje się bardziej czułym wskaźnikiem oceniającym długotrwały stres niż bezwzględna liczba komórek – heterofili i limfocytów, czy poziom kortykosteronu (Gross i Siegel 1983, Maxwell 1993). Niemniej jednak, w badaniach nad ekologią ptaków, relacja kortykosteron – H:L pozwala w zadowalający sposób oszacować pełen obraz reakcji stresowej w organizmie (Müller et al. 2011).

Tabela 1. Czynniki ekologiczne i fizjologiczne wpływające na proporcję heterofili i limfocytów (H:L) u piskląt

Table 1. Ecological and physiological factors affecting heterophils and lymphocytes (H:L) ratio in chicks. (1) – factors, (2) – species, (3) – result, (4) – source

Czynniki (1)	Gatunek (2)	Wynik (3)	Źródło (4)	
Płeć	<i>Falco naumanni</i>	Samce > samice	Ortego et al. 2009	
	<i>Falco tinnunculus</i>	Brak różnic	Parejo et al. 2007,	
	<i>Coracias garrulus</i>		Parejo & Silva 2009,	
	<i>Pachyptila belcheri</i>		Quillfeldt et al. 2008	
Wiek	<i>Pachyptila belcheri</i>	Wprost proporcjonalna korelacja	Quillfeldt et al. 2008	
	<i>Cyanoliseus patagonus</i>	Brak korelacji	Masello et al. 2009	
Wielkość łęgu	<i>Parus major</i>	Brak wpływu	Hórak et al. 1999,	
	<i>Taeniopygia guttata</i>		Naguib et al. 2004	
	<i>Certhia familiaris</i>	Wzrost H:L w zwiększonych łęgach	Suorsa et al. 2004,	
	<i>Ficedula hypoleuca</i>		Ilmonen et al. 2003,	
	<i>Cyanistes caeruleus</i>		Bañbura et al. 2008	
Fenologia klucia	<i>Coracias garrulus</i>	Wcześniej wyklułe > później wyklułe	Parejo et al. 2007	
	<i>Falco tinnunculus</i>	Później > wcześniej	Müller et al. 2011	
Suplementacja pokarmem	<i>Parus major</i>	Niższy H:L z dodatkowym pokarmem	Bañbura et al. 2011	
Ektopasożyty	<i>Ficedula hypoleuca</i>	Wzrost H:L	Lobato et al. 2005	
	<i>Passer domesticus</i>	Brak wpływu	Szabó et al. 2002	
Śmiertelność wewnątrz łęgu	<i>Certhia familiaris</i>	Wprost proporcjonalna korelacja	Suorsa et al. 2004	
Wielkość ciała	Dł. skrzydła	<i>Ficedula hypoleuca</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Moreno et al. 2002a,
		<i>Certhia familiaris</i>		Suorsa et al. 2004
	Dł. skoku	<i>Ficedula hypoleuca</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Moreno et al. 2002a
Masa ciała	<i>Ficedula hypoleuca</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Lobato et al. 2005,	
	<i>Falco tinnunculus</i>		Moreno et al. 2002a,	
	<i>Certhia familiaris</i>		Parejo & Silva 2009,	
			Suorsa et al. 2004	
Morfometryczne wskaźniki kondycji (związek między masą ciała a rozmiarami strukturalnymi)	<i>Pachyptila belcheri</i>	Brak korelacji	Quillfeldt et al. 2008	
	<i>Cyanoliseus patagonus</i>	Wprost proporcjonalna korelacja	Masello et al. 2009	
	<i>Falco naumanni</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Ortego et al. 2009	
Otluszczenie	<i>Falco tinnunculus</i>	Niskie > wyższe	Müller et al. 2011	
	<i>Certhia familiaris</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Suorsa et al. 2004	

Czynniki (1)	Gatunek (2)	Wynik (3)	Źródło (4)
Poziom hemoglobiny	<i>Cyanistes caeruleus</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Skwarska 2007 msc, Bańbura et al. 2008
Poziom hematokrytu	<i>Certhia familiaris</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Suorsa et al. 2004
Kortykosteron	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Wprost proporcjonalna korelacja (z endogennym kortykosteronem)	Shini et al. 2008, Müller et al. 2011
	<i>Falco tinnunculus</i>	Wprost proporcjonalna korelacja z egzogennym, brak z endogennym	
Białka szoku cieplnego (HSP60)	<i>Ficedula hypoleuca</i>	Wprost proporcjonalna korelacja	Moreno et al. 2002a
Iniekcja bakteryjnym antygenem – lipopolisacharydem (LPS) z <i>Escherichia coli</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Wzrost poziomu do 3 godzin po iniekcji	Shini et al. 2008

Okazuje się jednak, że interpretacja wyników uzyskanych dla liczby leukocytów i stosunku H:L może sprawiać pewne trudności (Allen 1981, Jones et al. 1995, Davis et al. 2008). I tak, wysoka proporcja heterofili we krwi, a tym samym wysoki poziom proporcji H:L, może świadczyć o toczącej się chorobie w ustroju, albo wręcz przeciwnie, dowodzi bardzo dużej sprawności układu odpornościowego, której odzwierciedleniem jest szybka reakcja na obecność patogenu. Natomiast wysoka liczba limfocytów, a tym samym niższa proporcja H:L, może wskazywać na brak pasożytów w ustroju albo odpowiedź organizmu na sytuację stresową. Następną trudnością w interpretacji wyników jest brak danych referencyjnych dla poszczególnych frakcji leukocytów dla wielu gatunków dziko żyjących ptaków, które umożliwiłyby porównanie obserwowanego stanu. Kolejnym utrudnieniem jest ustalenie czy zmiana poziomu leukocytów wynika z odpowiedzi organizmu na czynnik stresowy, czy też powstaje wskutek reakcji na toczący się stan zapalny i choroby. Mimo pewnych mankamentów proporcja H:L jest niezależnym i wygodnym wskaźnikiem pozwalającym ocenić stres środowiskowy z uwagi na powtarzalność oraz łatwość i szybkość w jego uzyskaniu (Gross & Siegel 1983, Ots et al. 1998, Davis et al. 2004, Ardia & Schat 2008).

Wpływ czynników ekologicznych i fizjologicznych na proporcję H:L

Pierwsze badania nad proporcją heterofili do limfocytów były wykonywane głównie na drobiu (Jones & Johannes 1972, Hodges 1979, Olowookorun et al. 1980, Puls 1988, Rowley & Ratcliff 1988, Campbell 1995, Thrall et al. 2004). Wykazały one, że zmiany poziomu powyższego parametru mogą wynikać z ograniczeń pokarmowych, izolacji od reszty osobników, infekcji wirusowych i bakteryjnych lub obecności grzybów chorobotwórczych i pierwotniaków (Gross & Siegel 1983, Beuving & Vonder 1986, Dein 1986, McFarlane & Curtis 1989, Dohms & Metz 1991, Klasing 1991, Maxwell 1993, Zulkifli et al. 1994).

U dziko żyjących ptaków, u osobników dorosłych, podobnie jak u piskląt, na kształtowanie się proporcji H:L wpływają różnorodne czynniki ekologiczne (tab. 2). Eksperymentalne zwiększenie liczby piskląt w gnieździe bogatki *Parus major* powoduje wzrost proporcji hete-

Tabela 2. Czynniki ekologiczne i fizjologiczne wpływające na proporcję heterofili i limfocytów (H:L) u ptaków dorosłych

Table 2. Ecological and physiological factors affecting heterophils and lymphocytes (H:L) ratio in adult birds. (1) – factors, (2) – species, (3) – result, (4) – source

Czynniki (1)	Gatunek (2)	Wynik (3)	Źródło (4)	
Wielkość łęgu	<i>Parus major</i> <i>Ficedula hypoleuca</i>	Wzrost H:L w eksperymentalnie zwiększonych łęgach	Hórák et al. 1998, Ilmonen et al. 2003	
	<i>Certhia familiaris</i>	Brak wpływu	Suorsa et al. 2004	
Zróżnicowanie między łęgami	<i>Parus major</i>	Pierwszy > drugi	Kilgas et al. 2006a	
Płeć	Wielkość zniesienia	<i>Tachycineta bicolor</i>	Wprost proporcjonalna korelacja u samic	Ochs & Dawson 2008
	Okres przedłęgowy	<i>Parus major</i>	Samce > samice	Hórák et al. 1998, Tummeleht 2006
	Inkubacja	<i>Alle alle</i>	Wyższy H:L u samic na początku inkubacji, u samców odwrotnie	Jakubas et al. 2008
	Cały okres łęgowy	<i>Parus major</i>	Samice > samce	Hórák et al. 1998, Ots et al. 1998, Kilgas et al. 2006a, Tummeleht 2006
		<i>Pachyptila belcheri</i>		Quillfeldt et al. 2008
		<i>Pygoscelis adeliae</i> <i>Falco tinnunculus</i> <i>Chloephaga picta</i>	Brak zróżnicowania	Vleck et al. 2000, Parejo & Silva 2009, Gladbach et al. 2010
		<i>Ptychoramphus aleuticus</i>	Młodsze samice > starsze samice, u samców brak	Knechtel 1998
		Cykl okołodobowy	<i>Parus major</i>	Brak zróżnicowania u samic
	Cykl roczny	<i>Parus major</i>	Brak zróżnicowania	Norte et al. 2009, Pap 2010
Data zniesienia	<i>Ptychoramphus aleuticus</i>	Wprost proporcjonalna korelacja u starszych, u młodych brak	Knechtel 1998	
Zróżnicowanie między środowiskami	<i>Parus major</i>	Brak wpływu	Kilgas et al. 2006a	
Zróżnicowanie między etapami cyklu życiowego	<i>Emberiza schoeniclus</i>	Wiosna (sezon łęgowy) > lato	Jakubas et al. 2011	
	<i>Parus major</i>	Wiosna (sezon łęgowy) > jesień	Norte et al. 2009	
		Wiosna i wczesne lato (lipiec) > zima	Pap et al. 2010	

Czynniki (1)	Gatunek (2)	Wynik (3)	Źródło (4)
	<i>Catharus ustulatus</i> <i>Catharus fuscescens</i>	Migracja wiosenna > sezon lęgowy	Owen & Moore 2006
	<i>Catharus ustulatus</i> <i>Hylocichla mustelina</i>	Migracja wiosenna > migracja jesienna	Owen & Moore 2006
Termin przylotu na lęgowisko	<i>Dumetella carolinensis</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Hatch et al. 2010
Pierzenie	<i>Parus major</i>	Wyższy H:L w pierwszej połowie pierzenia	Pap et al. 2010
	<i>Anas platyrhynchos</i>	Wyższy H:L w drugiej połowie pierzenia (wymiana lotek) i po tym okresie	Driver 1981
Pasożyty krwi	<i>Zonotrichia leucophrys</i>	Wyższy H:L u samic zainfekowanych, u samców brak wpływu	Bonier et al. 2007
	<i>Acrocephalus scirpaceus</i> <i>Acrocephalus schoenobaenus</i>	Wyższy H:L u osobników zainfekowanych	Wojczulanis-Jakubas et al. 2012
	<i>Parus major</i>	Wzrost H:L u samic, u samców brak wpływu	Krams et al. 2011
Morfometryczne wskaźniki kondycji (związek między masą ciała a rozmiarami strukturalnymi)	<i>Tachycineta bicolor</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja u samic	Ochs & Dawson 2008
	<i>Cyanoliseus patagonus</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Plischke et al. 2010
	<i>Pachyptila belcheri</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Quillfeldt et al. 2008
	<i>Chloephaga picta</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja u samców, u samic brak	Gladbach et al. 2010
	<i>Gallinula chloropus</i>	Wprost proporcjonalna korelacja	Alvarez et al. 2005
Otluszczenie	<i>Gallinula chloropus</i>	Odwrotnie proporcjonalna korelacja	Alvarez et al. 2005
Iniekcja antygenem <i>Brucella abortus</i> (BA)	<i>Parus major</i>	Wzrost H:L	Krams et al. 2012

rofilii do limfocytów u pary rodzicielskiej (Ots & Hórak 1996), czego konsekwencją jest wzrost wysiłku reprodukcyjnego, osłabienie ich kondycji fizjologicznej¹ oraz spadek sukcesu lęgowego. Osłabienie kondycji fizjologicznej u osobników dorosłych ogranicza ich szanse na przeżycie do następnego sezonu lęgowego, a wysiłek reprodukcyjny powoduje obniżenie sprawności układu odpornościowego (Norris & Evans 2000). Zatem wzrost poziomu proporcji heterofili do limfocytów może świadczyć również o wzmożonym wysiłku pary rodzicielskiej opiekującej się potomstwem (Hórak et al. 1998, Ilmonen et al. 2003). Zróżnicowanie proporcji H:L u bogatki między pierwszym a drugim lęgiem wynika również z odmiennych warunków środowiskowych, w jakich para rodzicielska opiekuje się młodymi. Zazwyczaj podczas drugich lęgów warunki atmosferyczne są korzystniejsze, mniejsze jest zagęszczenie par przystępujących do rozrodu, a wielkość lęgów jest mniejsza w porównaniu z lęgami wyprowadzanymi na początku sezonu rozrodczego (Mägi & Mänd 2004).

Etap sezonu rozrodczego jest istotnym czynnikiem wpływającym na poziom proporcji heterofili do limfocytów u samic. Podczas pierwszej fazy inkubacji obserwuje się wzrost proporcji H:L, który związany jest z obciążeniem organizmu w procesie formowania się jaj (Latimer & Bienzle 2000). Część energii przeznaczonej na utrzymanie sprawności układu odpornościowego wydatkowana jest na koszty związane z reprodukcją, czego efektem jest wzrost poziomu leukocytów. Po okresie składania i wysiadywania jaj samica odbudowuje swoje rezerwy energetyczne, co prowadzi do obniżenia poziomu proporcji H:L (Jakubas et al. 2008).

U części gatunków proporcja H:L ulega zróżnicowaniu u pary rodzicielskiej w trakcie trwania opieki nad potomstwem. Badania prowadzone na bogatce wykazały wyższą proporcję H:L u samic niż u samców (Hórak et al. 1998, Ots et al. 1998). Efekt ten jest odzwierciedleniem silniejszego stresu związanego z większym wysiłkiem rodzicielskim u samic.

Infekcje pasożytów krwi i ektopasożytów mogą wywierać istotny wpływ na sprawność układu odpornościowego ptaków (tab. 1 i 2). I tak na przykład osobniki młodociane namorzynka seszelskiego *Acrocephalus sechellensis* wykazują większą podatność na zapasożyce nie (van Oers et al. 2010). Wynik ten może sugerować, że pisklęta, na tle osobników dorosłych, są bardziej wrażliwe na obecność pasożytów we krwi, a ich układ odpornościowy jeszcze nie w pełni radzi sobie z odpowiedzią na patogeny. Wzrost proporcji H:L u młodych osobników zarażonych pasożytami powiązany jest zatem z mechanizmami obronnymi organizmu, których efektem jest wzrost liczby heterofili zwalczających toczącą się infekcję (Davis et al. 2004). Badania na drobiu wykazały, że wzrost sprawności heterofili rozwija się w ciągu 7 dni od wyklucia (Wells et al. 1998), czego wyrazem jest skłonność młodych osobników do zapadania na różnego rodzaju infekcje tuż po wylęgu. Na przykładzie piskląt indyków *Meleagris gallopavo* dowiedziono, że optymalna sprawność heterofili osiągana jest między 14 a 21 dniem życia (Lowry et al. 1997). Podobne zjawisko stopniowego wzrostu sprawności heterofili występuje również u piskląt dziko żyjących wróblowych, np. u bogatki i dymówki *Hirundo rustica* (Saino et al. 1999, Nadolski et al. 2006).

Zainfekowane osobniki zarówno młodociane, jak i dorosłe trzcinniczka *Acrocephalus scirpaceus* i rokitniczki *A. schoenobaenus* podczas jesiennej migracji miały wyższy poziom H:L w porównaniu z osobnikami niezainfekowanymi. Sama infekcja może być przyczyną podwyższonego poziomu stresu bądź alternatywnie zestresowane ptaki mogą łatwiej być infekowane przez pasożyty (Wojczulanis-Jakubas et al. 2012). Natomiast badania na mucholówce żałobnej *Ficedula hypoleuca*, w okresie lęgowym nie wykazały istotnej zależności

¹ Rozumianej jako wypadkowa wzajemnych relacji zachodzących wewnątrz ustroju uwarunkowanych wzajemnymi sprzężeniami pomiędzy różnorodnymi procesami i reakcjami zachodzącymi w organizmie (Kay 2001).

pomiędzy obecnością pasożytów krwi a stosunkiem H:L (Moreno et al. 2002b, tab. 2). Te rozbieżne wyniki mogą wskazywać na odmienne koszty walki z infekcją pasożytniczą w poszczególnych fazach rocznego cyklu życiowego ptaków.

Podczas sezonu lęgowego wzrost liczby heterofili, a tym samym wyższa proporcja H:L, może wynikać ze wzrostu liczby ektopasożytów (Fudge 1989, Ots et al. 1998). Podczas okresu rozrodczego ptaków ektopasożyty powodują obniżenie odporności organizmu oraz zaburzają jego metabolizm, w rezultacie czego oddziałują również negatywnie na wysiłek rodzicielski (Sheldon & Verhulst 1996). Wyniki licznych badań dowodzą, że poziom infestacji gniazda ektopasożytami wzrasta wraz z upływem sezonu lęgowego (Christe et al. 2002, Cosgrove et al. 2008), a zwiększenie liczby piskląt w gnieździe i jego wysokie zapasożycenie wpływają niekorzystnie na odporność młodych i dorosłych. Spadek sprawności układu odpornościowego wiąże się z częstszym zapadaniem ptaków na różnego rodzaju infekcje, np. bakteryjne, które istotnie ograniczają przeżycie do następnego okresu rozrodczego.

Proporcja heterofili do limfocytów ulega również zmianie w cyklu rocznym. Badania prowadzone na amerykańskich gatunkach drozdów wykazały wyższą proporcję H:L podczas wiosennej migracji w porównaniu z jesienną, najniższe zaś wartości odnotowano podczas okresu rozrodczego (Owen & Moore 2006). Różnica w poziomie H:L między migracją wiosenną i jesienną mogła wynikać z odmiennego wysiłku związanego z pokonaniem bariery ekologicznej. Wiosną chwywane ptaki właśnie pokonały Zatokę Meksykańską, co wiązało się z większymi wydatkami energii porównując z jesienią, kiedy ptaki dolatywały do Zatoki, mając za sobą mniej wyczerpujący lot nad lądem. Natomiast podczas sezonu lęgowego zauważono wyższą proporcję H:L u ptaków przelotnych w porównaniu z niemigrującymi (Owen & Moore 2006).

Ponadto proporcja H:L jest istotnie skorelowana z różnorodnymi cechami osobniczymi, m.in. z masą ciała, długością skrzydła i skoku, poziomem otluszczenia, morfometrycznymi wskaźnikami kondycji², które często używane są jako indykatory do oceny indywidualnej kondycji ptaków (Lindén et al. 1992) (tab. 1 i 2).

Podsumowanie

Przedstawiony przegląd pozwala na stwierdzenie, że proporcja liczby heterofili do limfocytów jest wygodnym parametrem pozwalającym ocenić poziom stresu u ptaków. Przy interpretacji proporcji H:L należy zwrócić uwagę na wpływ różnorodnych czynników ekologicznych i fizjologicznych. Rezultaty badań wielu autorów wskazują, że te czynniki w różnoraki sposób mogą oddziaływać na wartości wskaźnika H:L, o czym należy pamiętać przy interpretacji uzyskanych wyników. I tak na przykład dla prawidłowej interpretacji wyników badań porównawczych młodych ptaków istotne jest uwzględnienie osobników w tym samym wieku.

Przy badaniu immunokompetencji ptaków bądź dla określenia pełnego obrazu ich reakcji na stres, poza stosowaną proporcją H:L, wskazana jest jednak szersza analiza biochemiczna, uwzględniająca jak największą liczbę wskaźników. Dotychczasowe wyniki badań z wykorzystaniem proporcji H:L oraz brak ich jednoznacznej interpretacji skłania do kontynuacji badań zarówno korelacyjnych, jak i eksperymentalnych nad wpływem różnych czynników na poziom H:L. Badania te powinny pozwolić na pełniejszą ocenę przydatności proporcji H:L jako wskaźnika stresu i stanu zdrowia ptaków.

² Morfometryczne wskaźniki kondycji mogą być obliczane w różnoraki sposób, najczęściej jednak określane są jako reszta z liniowej regresji masy ciała względem długości skrzydła lub skoku (Dufva & Allander 1996, Hemborg & Lundberg 1998, Rintamäki et al. 1998), bądź jako iloraz masy ciała i sześcienu długości skrzydła (Winker et al. 1992).

Niniejsza praca została zrealizowana w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego N N304 045136. Składam szczególnie podziękowania prof. dr. hab. J. Bańburze za pomoc i cenne wskazówki, które okazały się niezbędne w realizacji tego opracowania oraz całemu zespołowi badawczemu za udział w gromadzeniu materiału.

Summary: The ratio of the heterophils and lymphocytes as a stress indicator in birds. The ratio of the heterophils and lymphocytes (H:L ratio) is known as a reliable stress indicator in free-living birds. It is considered that H:L ratio allows to assess body reaction to long-term stress caused by ecological and physiological factors. Results of studies of many authors indicate that particular factors can influence the stress index of young and adult birds in a different ways. The H:L ratio is affected by physiological mechanisms of the stress reaction. The level of corticosterone and heat shock proteins result in increase in the H:L ratio. A change in the H/L ratio is detectable within hours following exposure to a stressor. Thus, in contrast to corticosterone (its level increases 2–3 minutes after capture), the H/L ratio is not affected by handling or blood sampling stress what is advantageous in the field studies.

Literatura

- Aguirre A.A., Hansen D.E., Starkey E.E., McLean R.G. 1995. Serologic survey of wild cervids for potential disease agents in selected national parks in the United States. *Preventive Vet. Med.* 21: 313–322.
- Allen B.V. 1981. Method for the automation of equine differential leucocyte counts. *Equine Vet. J.* 13: 115–118.
- Alvarez F, Sanchez C., Angulo S. 2005. Small, fat male Moorhens *Gallinula chloropus* are healthier. *Ardeola* 52: 279–285.
- Ardia D.R., Schat K.A. 2008. Ecoimmunology. In: Davison F, Kaspers B., Schat K.A. (eds). *Avian Immunology*, ss. 421–441. Elsevier Academic Press, London.
- Bañbura J., Bañbura M., Gładalski M., Kaliński A., Markowski M., Michalski M., Nadolski J., Skwarska J., Zieliński P. 2011. Body condition parameters of nestling Great Tits *Parus major* in relation to experimental food supplementation. *Acta Ornithol.* 46: 207–212.
- Bañbura J., Skwarska J., Kaliński A., Wawrzyniak J., Słomczyński R., Bañbura M., Zieliński P. 2008. Effects of brood size manipulation on physiological condition of nestling Blue Tits *Cyanistes caeruleus*. *Acta Ornithol.* 43: 129–138.
- Bearhop S., Griffiths R., Orr K., Furness R.W. 1999. Mean corpuscular volume (MCV) as a measure of condition in bird. *Ecol. Lett.* 2: 352–356.
- Beuving G., Vonder G.M.A. 1986. Comparison of the adrenal sensitivity to ACTH of laying hens with immobilization and plasma baseline levels of corticosterone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 62: 353–358.
- 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. *Behav. Ecol.* 18: 121–129.
- Buczek J., Deptuła W., Gliński Z., Jarosz J., Stosik M., Wernicki A. (eds). 1999. *Immunologia porównawcza i rozwojowa zwierząt*. PWN, Warszawa–Poznań.
- Campbell T.W. (eds). 1995. *Avian Hematology And Cytology*. 2. Iowa State University Press, Ames.
- Campbell T.W., Dein F.J. 1984. *Avian hematology, the basics*. *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.* 14: 223–248.
- Christe P., Møller A.P., González G. & de Lope F. 2002. Intraseasonal variation in immune defence, body mass and hematocrit in adult house martins *Delichon urbica*. *J. Avian Biol.* 33: 321–325.
- Cosgrove C.L., Wood M.J., Day K.P., Sheldon B.C. 2008. Seasonal variation in *Plasmodium* prevalence in a population of blue tits *Cyanistes caeruleus*. *J. Anim. Ecol.* 77: 540–548.
- Davis A.K., Cook K.C., Altizer S. 2004. Leukocyte profiles in wild House Finches with and without mycoplasmal conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease. *EcoHealth* 1: 362–373.
- Davis A.K., Maney D.L., Maerz J.C. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Funct. Ecol.* 22: 760–772.
- Davison F, Kaspers B., Schat K.A. (eds). 2008. *Avian Immunology*. Elsevier, London, San Diego.

- Dein J. 1986. Hematology. In: Harrison G.J., Harrison W.R. (eds). *Clinical Avian Medicine*, ss. 174–191. Saunders, London.
- Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W. (red). 2002. *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej*. 2. Urban & Partner, Wrocław.
- Dohms J.E., Metz. A. 1991. Stress-mechanisms of immunosuppression. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 30: 89–109.
- Driver E.A. 1981. Hematological and blood chemical values of mallard, *Anas p. platyrhynchos*, drakes before, during and after remige moult. *J. Wildl. Dis.* 17: 413–421.
- Dubiec A. 2000. Nowe spojrzenie na koszty reprodukcji, czyli lekcja immunologii dla ornitologów. *Wiad. Ekol.* 46: 101–114.
- Dufva R., Allander K. 1996. Variable effects of the Hen Flea *Ceratophyllus gallinae* on the breeding success of the Great Tits *Parus major* in relation to weather condition. *Ibis* 138: 772–777.
- El Lethy H., Huber-Eicher B., Jungi T.W. 2003. Exploration of stress-induced immunosuppression in chickens reveals both stress-resistant and stress-susceptible antigen responses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 95: 91–101.
- Fair J.M., Paul E., Jones J. (eds). 2010. *Guidelines to the Use of Wild Birds in Research*. The Ornithological Council, Washington.
- Feldman B.F., Zinkl J.G., Jain N.C. (eds). 2000. *Schalm's Veterinary Hematology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Ficken M.D., Barnes H.J. 1989. Acute airsacculitis in turkeys inoculated with *Pasteurella multocida*. *Vet. Pathol.* 26: 231–237.
- Fudge A.M. 1989. Avian Hematology: Identification and Interpretation. In: *Proceedings of the Association of Avian Veterinarians*, ss. 284–292. Annual Meeting, Seattle.
- Gladbach A., Gladbach D.J., Quillfeldt P. 2010. Variations in leucocyte profiles and plasma biochemistry are related to different aspects of parental investment in male and female Upland geese *Chloephaga picta leucoptera*. *Comp. Bioch. Physiol. A* 156: 269–277.
- Gross W.B., Siegel H.S. 1983. Evaluation of heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Dis.* 27: 972–979.
- Harmon B.G. 1998. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. *Poult. Sci.* 77: 972–977.
- Hatch M.I., Smith R.J., Owen J.C. 2010. Arrival timing and hematological parameters in Gray Catbirds *Dumetella carolinensis*. *J. Ornithol.* 151: 545–552.
- Hawkey C.M., Dennett T.B. (eds). 1989. *Color Atlas of Comparative Veterinary Hematology*. Wolfe Medical Publications Ltd., London.
- Hemborg Ch., Lundberg A. 1998. Costs of overlapping reproduction and moult in passerine birds: an experiment with the pied flycatcher. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 43: 19–23.
- Hodges R.D. 1979. The Blood Cells. In: King A.S., McLelland J. (eds). *Form and Function in Birds*, ss. 361–380. Academic Press, London.
- Hood L.C., Boersma P.D., Wingfield J.C. 1998. The adrenocortical response to stress in incubating Magellanic Penguins *Spheniscus magellanicus*. *Auk* 115: 76–84.
- Hórák P., Jenni-Eiermann S., Ots I., Tegelmann L. 1998. Health and reproduction: sex-specific clinical profile of Great Tits *Parus major* in relation to breeding. *Can. J. Zool.* 76: 2235–2244.
- Hórák P., Ots I., Murumägi A. 1998. Haematological health state indices of reproducing Great Tits: a response to brood size manipulation. *Funct. Ecol.* 12: 750–756.
- Hórák P., Tegelmann L., Ots I., Møller A. P. 1999. Immune function and survival of great tit nestlings in relation to growth conditions. *Oecologia* 121: 316–322.
- Ilmonen P., Hasselquist D., Langefors Å, Wiehn J. 2003. Stress, immunocompetence and leucocyte profiles of pied flycatchers in relation to brood size manipulation. *Oecologia* 136: 148–154.
- Jain N.C. (eds). 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*. 4, s. 1221. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jain N.C. (eds). 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Fabiger, Philadelphia.
- Jakubas D., Wojczulanis-Jakubas K., Glac W. 2011. Variation of the reed bunting *Emberiza schoeniclus* body condition and haematological parameters in relation to sex, age and season. *Ann. Zool. Fenn.* 48: 243–250.

- Jakubas D., Wojczulanis-Jakubas K., Kreft R. 2008. Sex differences in body condition and hematological parameters in Little Auk *Alle alle* during the incubation period. *Ornis Fenn.* 85: 90–97.
- Jones R.G., Faust A.M., Matthews R.A. 1995. Quality team approach in evaluating three automated hematology analyzers with five-part differential capability. *Am. J. Clin. Pathol.* 103: 159–166.
- Jones D.R., Johansen K. 1972. The Blood Vascular System of Birds. In: Farner D.S., King J.R. (eds). *Avian Biology*, ss. 158–287. Academic Press, New York.
- Jurd R.D. 1994. Reptiles and Birds. In: Turner R.J. (eds). *Immunology: a Comparative Approach*, ss. 137–172. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- Kay I. 2001. Wprowadzenie do fizjologii zwierząt. PWN, Warszawa.
- Kilgas P., Mänd R., Mägi M., Tilgar V. 2006a. Hematological parameters in brood-rearing great tits in relation to habitat, multiple breeding and sex. *Comp. Biochem. Physiol. A* 144: 224–231.
- Klasing K.C. 1991. Avian inflammatory response: mediation by macrophages. *Poult. Sci.* 70: 1176–1186.
- Knechtel H.A. 1998. Effects of age, gender and condition on the reproductive effort of cassin's auklets *Ptychoramphus aleuticus* on Triangle island, British Columbia. Simon Fraser University, Burnaby.
- Krams I., Cîrule D., Krama T., Vrublevska J. 2011. Extremely low ambient temperature affects haematological parameters and body condition in wintering Great Tits *Parus major*. *J. Ornithol.* 152: 889–895.
- Krams I., Vrublevska J., Cîrule D., Kivleniece I., Krama T., Rantala M., Sild E., Hórak P. 2012. Heterophil/lymphocyte ratios predict the magnitude of humoral immune response to a novel antigen in great tits *Parus major*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 161: 422–428.
- Latimer K.S., Bienzle D. 2000. Determination and Interpretation of the Avian Leukogram. In: Feldman B.F., Zinkl J.G., Jain N.C. (eds). *Schalm's Veterinary Hematology*, 5, ss. 417–432. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Le Maho Y., Karmann H., Briot D., Handrich Y., Robin J.P., Mioskowski E., Cherel Y, Farni J. 1992. Stress in birds due to routine handling and a technique to avoid it. *Am. J. Physiol.* 263: 775–781.
- Lindén M., Gustafsson L., Pärt T. 1992. Selection on fledging mass in collared flycatchers and great tits. *Ecology* 73: 336–343.
- Lobato E., Moreno J., Merino S., Sanz J.J., Arriero E. 2005. Haematological variables are good predictors of recruitment in nestling pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *Ecoscience* 12: 27–34.
- Lowry V.K., Genovese K.J., Bowden, L.L., Kogut M.H. 1997. Ontogeny of the phagocytic and bactericidal activities of turkey heterophils and their potentiation by *Salmonella enteritidis*-immune lymphokines. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 19: 95–100.
- Lucas A.J., Jamroz C. 1961. *Atlas of Avian Hematology*. USDA. Agriculture Monograph 25, Washington.
- Masello J.F., Choconi R.G., Helmer M., Kremberg T., Lubjuhn T., Quillfeldt P. 2009. Do leucocytes reflect condition in nestling burrowing parrots *Cyanoliseus patagonus* in the wild? *Comp. Biochem. Physiol. A* 152: 176–181.
- Maxwell M.H. 1993. Avian blood leucocyte responses to stress. *World Poult. Sci. J.* 49: 34–43.
- Maxwell M.H., Robertson G.W. 1998. The avian heterophil leucocyte: a review. *World Poult. Sci. J.* 54: 155–178.
- Mägi M., Mänd R. 2004. Habitat differences in allocation of eggs between successive breeding attempts in great tits *Parus major*. *Ecoscience* 11: 361–369.
- McFarlane J.M., Curtis S.E. 1989. Multiple concurrent stressors in chicks. 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil:lymphocyte ratio. *Poult. Sci.* 68: 522–527.
- McGuill M.W., Rowan A.N. 1989. Biological effects of blood loss: implications for sampling volumes and techniques. *ILAR Journal* 31: 5–20.
- Moreno J., Merino S., Martínez J., Sanz J.J., Arriero E. 2002a. Heterophil/lymphocyte ratios and heat-shock protein levels are related to growth in nestling birds. *Ecoscience* 9: 434–439.
- Moreno, J., Merino, S., Sanz, J.J., Arriero, E. 2002b. An indicator of maternal stress is correlated with nestling growth in pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *Avian Sci.* 2: 175–182.
- Morici L.A., Eley R.M., Lance V.A. 1997. Effects of long-term corticosterone implants on growth and immune function in juvenile alligators, *Alligator mississippiensis*. *J. Exp. Zool.* 279: 156–162.

- Müller C., Jenni-Eiermann S., Jenni L. 2011. Heterophils/Lymphocytes-ratio and circulating corticosterone do not indicate the same stress imposed on Eurasian kestrel nestlings. *Funct. Ecol.* 25: 566–576.
- Nadolski J., Skwarska J., Kaliński A., Bańbura M., Śnieguła R., Bańbura J. 2006. Blood parameters as consistent predictors of nestling performance in great tit *Parus major* in the wild. *Comp. Biochem. Physiol. A* 143: 50–54.
- Naguib M., Riebel K., Marzal A., Gil D. 2004. Nestling immunocompetence and testosterone covary with brood size in a songbird. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271: 833–838.
- Norris K., Evans M.R. 2000. Ecological immunology: life-history trade-offs and immune defense in birds. *Behav. Ecol.* 11: 19–26.
- Norte A.C., Ramos J.A., Sousa J.P., Sheldon B.C. 2009. Variation of adult Great Tit *Parus major* body condition and blood parameters in relation to sex, age, year and season. *J. Ornithol.* 150: 651–660.
- O'Brien E.L., Morriso B., Johnson L.S. 2001. Assessing the effects of haematophagous ectoparasites on the health of nestling birds: haematocrit vs. haemoglobin levels in House Wrens parasitized by blow fly larvae. *J. Avian Biol.* 32: 73–76.
- Ochs C.L., Dawson R.D. 2008. Patterns of variation in leucocyte counts of female tree swallows, *Tachycineta bicolor*: repeatability over time and relationships with condition and costs of reproduction. *Comp. Biochem. Physiol. A* 150: 326–331.
- Olowookorun M.O., Ayeni J.S., Aire T.A. 1980. Plasma glucose and alkaline phosphatase levels in guinea-fowls *Numida meleagris* and Nigerian domestic fowls *Gallus domesticus*. *Zentralbl. Veterinarmed.* A 27: 578–582.
- Ortego J., Zaperó L., Calabuig G., Cordero P.J., Aparicio J.M. 2009. Physiological response to stress in fledgling lesser kestrels *Falco naumanni*: the role of physical condition, sex and individual genetic diversity. *Ibis* 151: 559–567.
- Ots I., Hórák P. 1996. Great tits *Parus major* trade health for reproduction. *Proc. R. Soc. Lond. B* 263: 1443–1447.
- Ots I., Murumägi A., Hórák P. 1998. Haematological health state indices of reproducing Great Tits: methodology and sources of natural variation. *Funct. Ecol.* 12: 700–707.
- Owen J.C., Moore F.R. 2006. Seasonal differences in immunological condition of three species of thrushes. *Condor* 108: 389–398.
- Pap P.L., Vágási C.I., Tökölyi J., Czirják G.Á., Barta Z. 2010. Variation in haematological indices and immune function during the annual cycle in the Great Tit *Parus major*. *Ardea* 98: 105–112.
- Parejo D., Silva N. 2009. Immunity and fitness in a wild population of Eurasian kestrels *Falco tinnunculus*. *Naturwissenschaften* 96: 1193–1202.
- Parejo D., Silva N., Avilés J.M. 2007. Within-brood size differences affect innate and acquired immunity in roller *Coracias garrulus* nestlings. *J. Avian Biol.* 38: 717–725.
- Plischke A., Quillfeldt P., Lubjuhn T., Merino S., Masello J.F. 2010. Leucocytes in adult burrowing parrots *Cyanoliseus patagonus* in the wild: variation between contrasting breeding seasons, gender, and individual condition. *J. Ornithol.* 151: 347–354.
- Post J., Rebel J.M.J., ter Huurne A.A.H.M. 2003. Automated blood cell count: a sensitive and reliable method to study corticosterone-related stress in broilers. *Poult. Sci.* 82: 591–595.
- Puls R. 1988. Mineral Levels in Animal Health: Diagnostic Data. 2, ss. 183–188. Sherpa International, Clearbrook.
- Quillfeldt P., Ruiz G., Aguilar Rivera M., Masello J.F. 2008. Variability in leucocyte distributions and stress index in Thin-billed prions *Pachyptila belcheri* during a poor season. *Comp. Biochem. Physiol. A* 150: 26–31.
- Rintamäki P.T., Lundberg A., Alatalo R.V., Höglund J., 1998. Assortative mating and female clutch investment in black grouse. *Anim. Behav.* 56: 1399–1403.
- Romero L.M., Reed J.M. 2005. Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough? *Comp. Biochem. Physiol. A* 140: 73–79.
- Rowley A.F., Ratcliff N.A. (eds). 1988. *Vertebrate Blood Cells*. Cambridge University Press.
- Ruiz G., Rosenmann M., Novoa F.F., Sabat P. 2002. Hematological parameters and stress index in rufous-collared sparrows dwelling in urban environments. *Condor* 104: 162–166.

- Rupley A.E. 1997. *Manual of Avian Practice*. WB Saunders, Philadelphia.
- Saino N., Calza S., Ninni P., Møller A.P. 1999. Barn swallows trade survival against offspring condition and immunocompetence. *J. Anim. Ecol.* 68: 999–1009.
- Samour J. (eds). 2000. *Avian Medicine*. Harcourt Publishers Ltd., London.
- Schwabl H., Bairlein F., Gwinner E. 1991. Basal and stress-induced corticosterone levels of garden warblers, *Sylvia borin*, during migration. *J. Comp. Physiol. B* 161: 576–580.
- Sergent N., Rogers T., Cunningham M. 2004. Influence of biological and ecological factors on hematological values in wild Little Penguins, *Eudyptula minor*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 138: 333–339.
- Sheldon B.C., Verhulst S. 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends Ecol. Evol.* 11: 317–321.
- Shini S., Kaiser P., Shini A., Bryden W.L. 2008. Biological response of chickens *Gallus gallus domesticus* induced by corticosterone and a bacterial endotoxin. *Comp. Biochem. Physiol. B* 149: 324–333.
- Shini S., Shini A., Huff G.R. 2009. Effects of chronic and repeated corticosterone administration in rearing chickens on physiology, the onset of lay and egg production of hens. *Physiol. Behav.* 98: 73–77.
- Siegel H.S. 1995. Stress, strains and resistance. *Br. Poult. Sci.* 36: 3–22.
- Skwarska J. 2007 msc. Zmienność wskaźników kondycji piskląt sikory modrej *Cyanistes caeruleus* w środowisku parkowo-ogrodowym i leśnym. Praca doktorska. Uniwersytet Łódzki.
- Suorsa P., Helle H., Koivunen V., Huhta E., Nikula A., Hakkarainen H. 2004. Effects of forest patch size on physiological stress and immunocompetence in an area-sensitive passerine, the Eurasian treecreeper *Certhia familiaris*: an experiment. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271: 435–440.
- Szabó K., Szalmás A., Liker A., Barta Z. 2002. Effects of haematophagous mites on nestling house sparrows *Passer domesticus*. *Acta Parasitol.* 47: 318–322.
- Thrall M.A. 2004. Hematology of Amphibians. In: Thrall M.A., Baker D.C., Lassen E.D. (eds). *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry: Text and Clinical Case Presentations*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Toth T.E., Siegel P.B. 1986. Cellular defense for the avian respiratory tract: paucity of free-residing macrophages in the normal chicken. *Avian Dis.* 30: 67–75.
- Tummeleht L. 2006. Physiological condition and immune function in great tits *Parus major*: sources of variation and trade-offs in relation to growth. Praca doktorska. University of Tartu.
- van Oers K., Richardson D.S., Scather S.A., Komdeur J. 2010. Reduced blood parasite prevalence with age in the Seychelles warbler: selective mortality or suppression of infection? *J. Ornithol.* 151: 69–77.
- Vleck C.M., Vortalino N., Vleck D., Bucher T.L. 2000. Stress, corticosterone, and heterophil to lymphocyte ratios in free-living Adélie penguins. *Condor* 102: 392–400.
- Wells L.L., Lowry V.K., DeLoach J.R., Kogut M.H. 1998. Age-dependent phagocytosis and bactericidal activities of the chicken heterophil. *Dev. Comp. Immunol.* 22: 103–109.
- Winker K., Warner D.W., Weisbrod A.R. 1992. Daily mass gains among woodland migrants at an inland stopover site. *Auk* 109: 853–862.
- Wojczulanis-Jakubas K., Jakubas D., Czujkowska A., Kulaszewicz I., Kruszewicz A.G. 2012. Blood parasite infestation and the leukocyte profiles in adult and immature reed warblers (*Acrocephalus scirpaceus*) and sedge warblers (*Acrocephalus schoenobaenus*) during autumn migration. *Ann. Zool. Fenn.* 49, w druku.
- Zulkifli I., Dunnington E.A., Gross W.B., Siegel P.B. 1994. Food restriction early or later in life and its effect on adaptability, disease resistance, and immunocompetence of heat-stressed dwarf and nondwarf chickens. *Br. Poult. Sci.* 35: 203–221.

Joanna Skwarska

Katedra Zoologii Doświadczalnej i Biologii Ewolucyjnej
 Uniwersytet Łódzki
 Banacha 12/16, 90-237 Łódź
 joaskw@biol.uni.lodz.pl