
ZAŁĄCZNIK 2
AUTOREFERAT
(OPIS OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH I DOROBKU)

DR INŻ. MAŁGORZATA GUMUŁKA

ZAKŁAD HODOWLI TRZODY CHLEWNEJ I DROBNEGO
INWENTARZA

INSTYTUT NAUK O ZWIERZĘTACH

WYDZIAŁ HODOWLI I BIOLOGII ZWIERZĄT

UNIwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja

W KRAKOWIE

Al. Mickiewicza 24/28

30-059 Kraków

Tel. (012) 662 40 74

e-mail: m.gumulka@ur.krakow.pl

Kraków 2017

1. **Imię i Nazwisko:** Małgorzata Gumułka
2. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

Magister inżynier zootechnik Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Zootechniczny (obecnie Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt), 12 lipca 1995r.

Doktor nauk rolniczych w zakresie zootechniki Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt (obecnie Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt), 20 czerwca 2001r. tytuł rozprawy doktorskiej – „Badania nad długością okresu znoszenia zapłodnionych jaj u kur”.

3. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.**

2001r.- do chwili obecnej Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Instytut Nauk o Zwierzętach, Zakład Hodowli Trzody Chlewnej i Drobego Inwentarza

4. **Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):**

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

Cykl czterech publikacji naukowych pod tytułem:

„Sezonowe zmiany w behawiorze płciowym, parametrach jakości nasienia i aktywności osi podwzgórze-przysadka-gonady u gęsiorów”

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy)

H.1. Gumułka M., Rozenboim I. 2013. Mating activity of domestic geese ganders (*Anser anser f. domesticus*) during breeding period in relation to age, testosterone and thyroid hormones. *Animal Reproduction Science*, 142: 183– 190. Pkt.MNiSW- 30, IF-1,581

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń polegających na ocenie aktywności płciowej gęsiorów w sezonie rozrodczym z uwzględnieniem wieku samic. Ponadto, zinterpretowałam wyniki badań oraz napisałam manuskrypt. Przeprowadziłam manuskrypt przez korektę po recenzjach. Mój udział procentowy szacuję na 90 %.

H.2. Gumułka M., Rozenboim I. 2015. Breeding period – associated changes in semen quality, concentrations of LH, PRL, gonadal steroid and thyroid hormones in domestic goose ganders (*Anser anser f. domesticus*). *Animal Reproduction Science*, 154: 166- 175. Pkt.MNiSW- 30, IF-1,377

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń. Przeprowadziłam ocenę parametrów jakościowo-ilościowych nasienia gęsiorów w sezonie rozrodczym w odniesieniu do stężenia hormonów związanych z aktywnością płciową. Ponadto, zinterpretowałam wyniki badań oraz napisałam manuskrypt. Współautor pracy wykonał oznaczenia stężenia T, E2, P4 i PRL w osoczu krwi gęsiorów. Mój udział procentowy szacuję na 80 %.

H.3. Gumułka M., Rozenboim I. 2015. Effect of breeding stage and photoperiod on gonadal and serotonergic axes in domestic ganders. *Theriogenology*. 84 (8): 1332-1341. Pkt.MNiSW- 30, IF-1,838

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń polegających na ocenie zmian w aktywności genów osi podwzgórze-przysadka-gonady oraz funkcjonowaniu jąder u gęsiorów w sezonie rozrodczym, z uwzględnieniem różnej długości dnia świetlnego. Ponadto zinterpretowałam wyniki badań oraz napisałam manuskrypt. Przeprowadziłam manuskrypt przez korektę po recenzjach. Współautor pracy wykonał oznaczenia stężenia T i PRL w osoczu krwi gęsiorów. Mój udział procentowy szacuję na 80 %.

H.4. Gumułka M., Rozenboim I. 2015. Mating activity and sperm penetration assay in prediction of the reproduction potential of domestic goose in a harem system. *Animal Reproduction Science*, 161: 138- 145. Pkt.MNiSW- 30, IF- 1,377

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń polegających na przeprowadzeniu testu penetracji plemników dla jaj gęsi. Ponadto, przeanalizowałam zapis behawioru płciowego ptaków, zinterpretowałam wyniki i napisałam manuskrypt. Mój udział procentowy szacuję na 90 %.

Łączna wartość punktowa MNiSW powyższych publikacji wynosi 120 punktów wg roku wydania.

Sumaryczny Impact Factor wg listy *Journal Citation Reports (JCR)* wynosi 6,173.

Oświadczenia współautora wyżej wymienionych prac stanowi załącznik nr 4.

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wyniki rozrodu gęsi domowych utrzymują się na relatywnie niskim poziomie w porównaniu do kur. Jest to częściowo związane z sezonowością w aktywności rozrodczej. W strefie klimatycznej Polski sezon rozrodczy rozpoczyna się pod koniec stycznia, a kończy w lipcu. Pomimo stosowania regulacji warunków mikroklimatycznych, w tym długości dnia świetlnego, w jego drugiej połowie obserwuje się stopniowe obniżanie zapłodnienia jaj. Stwarza to problemy w komercyjnym chowie tych ptaków. Pomimo wieloletniego użytkowania gęsiorów mało uwagi poświęca się badaniom ich potencjału reprodukcyjnego. Ponadto, wśród pięciu podstawowych gatunków ptaków domowych w warunkach hodowlanych jedynie gęsi charakteryzują się sezonową aktywnością rozrodczą. Mogą więc one stanowić model do badań czynników warunkujących długość okresu aktywności płciowej samców.

Szczególny materiał badawczy stanowią ptaki utrzymywane w stadach objętych programem ochrony zasobów genetycznych danego kraju. Gęsi rasy zatorskiej (ZD-1) objęte są światowym programem ochrony przed zagładą ginących ras zwierząt gospodarskich (World Watch List for Domestic Animal Diversity). U ptaków tych mogą występować zachowania płciowe o konserwatywnym charakterze, bardziej typowym dla dzikich gęsi. Wyniki badań prowadzonych w tym kierunku mogą być w przyszłości wykorzystane przy rozwiązywaniu problemów w komercyjnych stadach gęsi.

Celem badań prezentowanych w ramach osiągnięcia naukowego było określenie dynamiki zmian w wydajności reprodukcyjnej samców gęsi domowej w różnych okresach sezonu rozrodczego, w powiązaniu z aktywnością osi podwzgórze-przysadka-gonady oraz mikrostrukturą i funkcją jąder, a także zgromadzenie danych o charakterze użytkowym

dotyczących parametrów jakościowo-ilościowych nasienia i behawioru reprodukcyjnego w stadzie gęsi zatorskich.

Cel badań realizowano poprzez ustalenie terminu rozpoczęcia i zakończenia sezonowej aktywności płciowej samców oraz jej intensywności wyrażanej częstotliwością krycia, przy różnym wieku samic (praca H.1. i H.4.). Określenie stężenia hormonów płciowych gonad, hormonu luteinizującego (LH), prolaktyny (PRL), trójjodotyroniny (T3) i tyroksyny (T4) oraz parametrów ilościowych i jakościowych nasienia gęsi zatorskich w okresie od sezonowej reaktywacji do zakończenia rozrodu (praca H.2.). Ponadto, oznaczenie ekspresji genów gonadoliberyny (GnRH-I), naczynioaktywnego peptydu jelitowego (VIP), podjednostki β hormonu luteinizującego (LH β), prolaktyny (PRL), receptorów prolaktyny (PRLR) na poziomie mRNA w osi podwzgórze-przysadka-gonady w czasie sezonowej reaktywacji, w okresie rozrodu i po jego zakończeniu, w warunkach różnej długości dnia świetlnego w szczycie sezonu (praca H.3.).

Przy naturalnym kojarzeniu sukces reprodukcyjny samca warunkowany jest zdolnością do produkcji dobrej jakości nasienia jak również skutecznością jego transferu do narządów rozrodczych samicy. Mimo stosowania u gęsi domowych krycia naturalnego, niewiele jest badań dotyczących behawioru reprodukcyjnego tego gatunku. Gillette (1977) opisał ceremoniał godowy wyróżniając siedem kolejnych sekwencji. Akesson i Raveling (1982) określili zmiany w aktywności płciowej w stadzie gęsi kanadyjskich (*Branta canadensis moffitti*), w wybranych okresach sezonu reprodukcyjnego. Autorzy zanotowali aktywność ptaków od początku nieśności do okresu wysiadywania jaj. Rosiński (1986) scharakteryzował aktywność płciową w drugiej połowie sezonu rozrodczego stada gęsi białych włoskich. Nie ma natomiast danych o przebiegu aktywności płciowej u gęsi domowych w czasie całego okresu rozrodu. Ponadto, dla nauki i praktyki hodowlanej, interesujące jest poznanie rozkładu częstotliwości krycia u indywidualnych samców.

Haremowy system utrzymania wyklucza socjalne interakcje pomiędzy samcami wpływające na dostęp do partnera seksualnego.

W praktyce hodowlanej gęsi użytkowane są przez kilka sezonów rozrodczych. Wiek samic związany z doświadczeniem w kontaktach socjalnych może oddziaływać na aktywność samców i wyniki zapłodnienia. U monogamicznych gęsi gęgawych (*Anser anser*) utrzymywanych w warunkach hodowlanych i poligamicznych gęsi domowych (*Anser domesticus*) behawioralne interakcje pomiędzy ptakami w stadzie oraz partnerami w parze wpływają na wyniki rozrodu (Hirschenhauser i wsp., 1999b; Hirschenhauser i wsp., 2010). Ponadto, samice wykazują pokopulacyjne mechanizmy na poziomie jajowodu zapewniające ostateczny wybór nasienia od danego samca (Birkhead i wsp., 2004).

U ptaków wysokie stężenie testosteronu (T) we krwi, na początku okresu rozrodu, związane jest z reprodukcyjnym behawiorem obejmującym obronę terytorium, zaloty i krycie samic. W przypadku gęsi domowych nie ma danych o równoczesnym kształtowaniu się profilu T i częstotliwości krycia w całym okresie użytkowania. Ponadto obecność aktywnego seksualnie partnera może modulować stężenie T oraz behawior płciowy samca. W czasie użytkowania status socjalny samca, związany z utworzeniem pary, wpływa na stężenie T u gęsi kanadyjskich (*Branta canadensis*) (Akesson i Raveling, 1982) i androgenów u gęsi gęgawych (*Anser anser*) (Hirschenhauser i wsp., 1999a). U gęsi domowych synchronizacja pomiędzy pozycją socjalną i stężeniem androgenów u partnerów wpływa na reprodukcyjny sukces (Hirschenhauser i wsp., 1999a, 2010). Poznanie behawioru płciowego i jego rozkładu w czasie sezonu reprodukcyjnego może ułatwić podejmowanie decyzji związanych z doбором samców do rozrodu, szczególnie w przypadku stad objętych programem ochrony zasobów genetycznych.

W badaniach opublikowanych w pracy **H.1.** analizowano aktywność płciową gęsi przy haremowym systemie krycia w okresie od zestawienia stadek (listopad) do

zakończenia rozrodu (czerwiec). Obserwacje dotyczyły dwu- /trzyletnich samców i jedno- lub dwu- / trzyletnich samic zestawionych w piętnastu stadkach przy stosunku płci 1 gęsior: 4 gęsi. Analizowano częstotliwość zalotów, prób kopulacji, kopulacji z kontaktem kloak i ogólną aktywność płciową. Zachowanie ptaków oceniano trzy razy w tygodniu, w godzinach porannych i popołudniowych. Ponadto notowano termin uzyskania dojrzałości płciowej samic i przebieg nieśności. Analizowano także zapłodnienie jaj oraz stężenie T, T3 i T4 we krwi. Wszystkie sekwencje ceremoniału godowego wykazano przed fotostymulacją stada i rozpoczęciem nieśności. Aczkolwiek w tym okresie częstotliwość kopulacji z kontaktem kloak była na niskim poziomie. Aktywność płciowa samców przed dojrzałością samic może być związana z potrzebą uzyskania doświadczenia behawioralnego i ustalenia interakcji socjalnych. Nie można również wykluczyć konieczności zgromadzenia przez samice plemników w kanalikach przechowujących nasienie w jajowodzie, przed rozpoczęciem nieśności. Po fotostymulacji (styczeń) zanotowano wzrost aktywności płciowej korespondujący z gwałtownym zwiększeniem stężenia T we krwi. W tym okresie częstotliwość kopulacji z kontaktem kloak wynosiła w przybliżeniu jeden raz na dzień. W drugiej połowie okresu reprodukcji (kwiecień-czerwiec) zanotowano obniżenie zapłodnienia jaj odpowiadające niższej częstotliwości krycia. W tym czasie wykazano wzrost wzajemnych interakcji płciowych pomiędzy samicami mający prawdopodobnie stymulować aktywność płciową samców. Równocześnie stężenie T we krwi obniżyło się do poziomu notowanego na początku sezonu rozrodczego. W badaniach zwrócono również uwagę na aktywność płciową samców w odniesieniu do wieku samic. Zaskakująco, ogólna aktywność płciowa była prawie dwukrotnie wyższa dla stadek, w których gęsiory zestawiono z samicami jednorocznymi w porównaniu do dwu- / trzyletnich. Dla stadek z samicami jednorocznymi obserwowano również większą częstotliwość interakcji samica-samica. Jednakże

zapłodnienie jaj było na podobnym poziomie dla obu grup wiekowych. Można sugerować, iż w przypadku samic jednorocznych, o mniejszym doświadczeniu behawioralnym, nie wszystkie kopulacje są efektywne i związane z przekazaniem nasienia. Równocześnie wiek gęsi może wpływać na wydajność gromadzenia nasienia w kanalikach w jajowodzie. Jeżeli założymy, że starsze gęsi przechowują plemniki bardziej efektywnie niż jednoroczne, to mogą one uzyskać akceptowany poziom zapłodnienia przy niższej częstotliwości krycia.

Można sugerować, że na sukces reprodukcyjny gęsi, przy haremowym systemie krycia, wpływają socjalne czynniki takie jak obecność samic w okresie poprzedzającym rozpoczęcie produkcji jaj. Zapewnia ona kształtowanie wzajemnych relacji pomiędzy partnerami i uzyskanie doświadczenia w behawiorze płciowym. W praktyce chowu gęsi zaleca się przestrzeganie terminu zestawienia stada przed rozpoczęciem stymulacji ptaków do nieśności, za pośrednictwem zmiany długości dnia świetlnego i żywienia. Wiek samic wpływa na wyniki zapłodnienia przy wyższych wartościach dla samic dwu-/trzyletnich w porównaniu do jednorocznych. Obniżenie płodności w drugiej połowie sezonu rozrodczego gęsi może być związane ze zmniejszeniem efektywności kolejnych sekwencji ceremoniału godowego.

W kolejnej pracy (H.4.) w oparciu o wcześniejsze wyniki obserwacji behawioru płciowego podjęto próbę określenia czy częstotliwość kopulacji, test penetracji plemników (TPP) i stężenie T w osoczu krwi mogą być wykorzystane do monitorowania płodności w stadach reprodukcyjnych gęsi. Wyróżniono trzy grupy gęsi różniące się częstotliwością kopulacji. Wyższą częstotliwość prób kopulacji i kopulacji z kontaktem kloak zanotowano w godzinach przedpołudniowych. Dla uzyskania sukcesu reprodukcyjnego konieczna jest synchronizacja czynników behawioralnych i fizjologicznych zarówno w cyklu rocznym jak również okołodobowym. Prawdopodobnie

gęsi mają wyższy potencjał magazynowania plemników w jajowodzie na początku dnia świetlnego. Może być to związane z procesem tworzenia jaja. Badania Szado i wsp., (1995) wykazały, że większa liczba jaj znoszona jest w godzinach wieczornych oraz w nocy. Grupy gęsiorów o niskiej i średniej częstotliwości krycia uzyskały podobny poziom zapłodnienia w pierwszej (luty-marzec) i drugiej połowie (kwiecień-maj) sezonu rozrodczego co pozwala sugerować, iż średnia aktywność płciowa na poziomie poniżej jednego krycia w czasie dnia jest wystarczająca dla uzyskania sukcesu reprodukcyjnego. Nie mniej jednak, stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy częstotliwością kopulacji z kontaktem kloak a zapłodnieniem jaj. Wyniki te korespondują z badaniami Bernon i Siegel (1983) oraz Jones i Mench (1991), którzy zanotowali pozytywne efekty selekcji na częstotliwość kopulacji u kogutów. Nie stwierdzono natomiast bezpośredniej interakcji pomiędzy stężeniem T w osoczu krwi a zapłodnieniem jaj i częstotliwością kopulacji. Podobnie, wyniki testu penetracji plemników nie były bezpośrednio związane z zapłodnieniem jaj. Można więc sugerować, że dla stad reprodukcyjnych gęsi TPP może być stosowany do wykazania różnic w częstotliwości/efektywności krycia pomiędzy samcami jako końcowy wskaźnik transferu nasienia. Ogólna aktywność płciowa oraz stężenie T nie odzwierciedlają efektywności rozrodczej samców przy haremowym systemie rozrodu. Częstotliwość krycia pozostaje natomiast w pozytywnej zależności z zapłodnieniem jaj. Przy czym najkorzystniejsze wyniki płodności, w całym okresie użytkowania, uzyskuje się u samców charakteryzujących się na początku rozrodu średnią częstotliwością kopulacji.

W dostępnej literaturze brak jest danych o profilu stężenia hormonów związanych z sezonowością rozrodu w okresie użytkowania krajowych ras gęsi domowych, u których reaktywacja płciowa następuje po wydłużeniu dnia po fotorefrakcji. Dotychczas scharakteryzowano kształtowanie się stężenia LH, PRL, hormonów płciowych i tarczycy u

gęsi długiego (Peczely i wsp., 1993, Peczely i wsp., 2011, Yang i wsp., 2017) oraz krótkiego dnia (Huang i wsp., 2008, Shi i wsp., 2007) w wybranych okresach rozrodu. Ponadto Hirschenhauser i wsp., (2010) przedstawili profil androgenów u gęsi domowych długiego dnia, jednakże przy stosowaniu w rozrodzie naturalnych lęgów. Leska i wsp., (2012) określili zmiany w stężeniu T w okresie reaktywacji, w czasie aktywności płciowej i po jej zakończeniu u gęsi Białych Kołodzkich®. W dotychczasowych doświadczeniach, na początku okresu fotorefrakcji gęsi, przy niskim stężeniu T obserwowano wysoki poziom PRL (Peczely i wsp., 1993; Shi i wsp., 2007) oraz zmiany poziomu hormonów tarczycy (Peczeli i wsp., 2011), co sugeruje współzależność pomiędzy tymi hormonami w hamowaniu aktywności rozrodczej i prowokowaniu pierzenia. W dostępnej literaturze naukowej brak jest natomiast informacji równocześnie obrazujących profil hormonów i parametry jakości nasienia u gęsi. Zagadnienie to jest istotne z punktu widzenia efektywnej długości okresu ich rozrodu. Szczegółowa, równoczesna analiza endokrynną i seminologiczną może bowiem ułatwić określenie terminu początku zmian na poziomie hormonalnym skutkujących późniejszym obniżeniem płodności. Można także rozważyć możliwość wykorzystania wyników oznaczeń poziomu hormonów we krwi przy wyborze/eliminacji gęsi w przypadku braku możliwości pobrania i/lub oceny ejakulatów.

Jakość nasienia gęsi została scharakteryzowana u gęsi Białych Kołodzkich® wykorzystywanych przy komercyjnej produkcji gęsin w Polsce. Uwzględniono wpływ wieku samców i okresu sezonu rozrodu (Łukaszewicz, 2002; Łukaszewicz i wsp., 2003) oraz opracowano metody kriokonserwacji ejakulatów (Łukaszewicz, 2002). Jednakże ptaki tej rasy poddawane były intensywnej selekcji na cechy reprodukcyjne, co mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki. Brak jest natomiast danych dotyczących parametrów nasienia gęsi ze stad objętych programem ochrony zasobów genetycznych. Nie

przeprowadzono też dotychczas charakterystyki nasienia gęsi rasy zatorskiej. Biorąc pod uwagę problemy z zapłodnieniem jaj, jakie od kilka lat notuje się w stadzie gęsi zatorskich, informacje takie mogą mieć praktyczne zastosowanie. Ponadto, do tej pory tylko w jednej pracy uwzględniono zastosowanie w analizie nasienia gęsi cytometrii przepływowej (Partyka i wsp., 2011). Poznanie endokrynnych uwarunkowań sezonowości rozrodu gęsi może umożliwić w przyszłości opracowanie dodatkowych metod kontroli długości użytkowania samców tego gatunku ptaków i lepsze dostosowanie produkcji piskląt do potrzeb rynku.

W badaniach podjętych w pracy **H.2.** przeprowadzano ocenę jakości nasienia oraz określono profil stężenia LH, PRL, hormonów steroidowych gonad i hormonów tarczycy w okresie sezonu rozrodczego dwuletnich gęsi (listopad-lipiec). Krew do analiz pobierano co tydzień. Nasienie oceniano przy wykorzystaniu konwencjonalnych metod i z wykorzystaniem cytometrycznej oceny integralności błony komórkowej oraz indeksu fragmentacji DNA. Jak można było oczekiwać, dla gęsi utrzymywanych w komercyjnie kontrolowanych warunkach, nasienie o najwyższych parametrach jakości zanotowano w pierwszej połowie rozrodu (marzec). We wcześniejszych badaniach (**H.1.**) w tym etapie sezonu rozrodczego stwierdzono najwyższą częstotliwość kopulacji, szczyt produkcji jaj i wysoki poziom zapłodnienia. Wysoka wartość biologiczna nasienia w tym okresie może być częścią sezonowej synchronizacji pomiędzy zewnętrznymi czynnikami mikrośrodowiska, w tym długością dnia świetlnego i płodnością samic, a wewnętrzną synchronizacją osi podwzgórze-przysadka-gonady u gęsi.

W drugiej połowie sezonu (kwiecień) zanotowano gwałtowne obniżenie jakości nasienia. W tym okresie wartości wskaźnika jakości nasienia były około dwa razy niższe w porównaniu do pierwszej połowy sezonu. Ponadto liczba plemników z nieuszkodzoną błoną komórkową („żywe”) wykazana przy standardowym barwieniu eozyna-nigrozyna

oraz przy analizie metodą cytometryczną (barwienie fluorochromami SYBR-14 i jodkiem propidyny) była niższa. Fakt ten może w znaczącym stopniu przyczynić się do zmniejszenia efektywności magazynowania plemników w jajowodzie samic i produkcji zapłodnionych jaj w okresie pomiędzy kolejnymi kopulacjami. Dodatkowo we wcześniejszych badaniach (H.1.) w tym okresie notowano obniżenie częstotliwości kopulacji. Można więc sugerować, że u gęsi długiego dnia okres rozrodu w danym sezonie może być regulowany kompleksowymi działaniami w zarządzaniu stadem. Jednakże prawdopodobnie, warunki mikroklimatyczne w okresie późnej wiosny indukują początek negatywnych zmian w procesie spermatogenezy.

W czasie sezonu rozrodczego (luty-czerwiec) od dwuletnich gęsiorów zatorskich można uzyskać około 0,20 ml nasienia o koncentracji plemników wahającej się od 137,6 do 331,6 x 10⁶ plemników/ml i przy ok. 45% udziale plemników żywych, morfologicznie prawidłowych. Wskaźnik jakości nasienia uzyskuje wartości w zakresie od 6,4 do 37,3 %. W cytometrycznej ocenie ejakulatów notuje się od 75,3 do 83,9 % plemników z nieuszkodzoną błoną komórkową, czyli o około 10% mniej w porównaniu do wyników uzyskanych w konwencjonalnej metodzie identyfikacji żywych plemników. Wartości indeksu fragmentacji DNA (DFI) kształtują się w zakresie od 16,6 do 23,5% plemników z uszkodzoną chromatyną, co stanowi wysoką wartość w odniesieniu do danych podawanych w literaturze dla innych gatunków ptaków. Przy uwzględnieniu standardowych parametrów jakościowych, nasienie gęsiorów zatorskich jest zbliżone do pozyskiwanego od komercyjnie wykorzystywanych ras gęsi w pierwszym sezonie rozrodczym (Łukaszewicz, 2002; Łukaszewicz i wsp., 2003).

Analiza profilu hormonów wykazała, że po fotostymulacji (styczeń) gęsiorów nastąpił wzrost stężenia T i LH we krwi. Wzrost stężenia LH zanotowano bezpośrednio po fotostymulacji z najwyższym poziomem uzyskanym tydzień po wydłużeniu dnia

światlnego. W tym okresie wysokie stężenie LH korespondowało z podobnym przebiegiem stężenia T. Szybkie zmiany stężenia LH po wydłużeniu dnia świetlnego mogą wskazywać na jego główną rolę jako czynnika wyzwalającego zmiany w osi podwzgórze-przysadka-gonady u gęsi. W okresie tym notowano pośrednie stężenie T3 i T4. Według Nakao i wsp., (2008) oraz Ono i wsp., (2009) hormony tarczycy współuczestniczą w hamowaniu/aktywowaniu funkcji rozrodczych na poziomie przemian lokalnych w podwzgórzu. Z postępem sezonu rozrodczego wykazano obniżenie stężenia LH i T z równoczesnym wzrostem PRL. We wcześniejszych badaniach wykonanych u gęsi długiego (Peczeli i wsp., 1993) i krótkiego dnia (Shi i wsp., 2007) w okresie rozrodu notowano niski poziom PRL natomiast wysoki poza okresem aktywności płciowej. W badaniach wykonanych w pracy **H2** wzrost stężenia PRL wyprzedzał regresję w wartościach parametrów jakości nasienia obserwowanych w drugiej połowie rozrodu. Prawdopodobnie istotnemu obniżeniu stężenia LH i T w osoczu krwi w okresie późnej wiosny towarzyszą zmiany endokrynne przy pośrednictwie PRL i hormonów tarczycy powodujące postępującą regresję wydajności spermatogenezy. Avital-Cohen i wsp., (2013) wykazali, że u kur mięsnych redukcja płodności wraz z wiekiem ptaków związana jest ze wzrostem stężenia PRL i ekspresji VIP-PRL mRNA w osi podwzgórze-przysadka. Podobny mechanizm może być związany z zakończeniem sezonu rozrodczego gęsi.

Długość dnia świetlnego dostarcza sezonowym ptakom podstawowych informacji o optymalnym czasie dla inicjowania i zakończenia rozrodu (Sharp, 2005; Yoshimura, 2010). W obecnej strategii prowadzenia gęsi, stada reprodukcyjne poddawane są działaniu różnej długości dnia. Zwiększenie liczby godzin światła przed dojrzałością płciową przyspiesza jej uzyskanie i zmniejsza różnicowanie pomiędzy ptakami. Natomiast właściwy program świetlny w czasie okresu reprodukcji stymuluje produkcję jaj i wpływa na czas jej trwania (Elminowska-Wenda i Rosiński, 1993). W Polskich warunkach

klimatycznych, w okresie intensywnego rozrodu gęsi, polecany jest dzień krótki. Jednakże zachowanie reżimu świetlnego nie zawsze jest przestrzegane. Brak jest danych analizujących wpływ wydłużenia długości dnia, w okresie szczytu nieśności, na ekspresję genów oraz profil hormonów związanych z sezonowością w aktywności gęsi. Warunki długiego dnia mogą przyczyniać się do przyspieszenia negatywnych zmian w płodności związanych z początkiem fotorefrakcji.

W synchronizowaniu oraz regulowaniu reprodukcyjnej sezonowości zarówno u ptaków długiego jak i krótkiego dnia istotną rolę odgrywają hormony podwzgórza – GnRH-I i VIP, przysadki- LH β i PRL oraz inne w tym tarczycy (Sharp i Blache, 2003; Sharp., 2005; Leska i Dusza, 2008; Yoshimura, 2010). W dostępnej literaturze brak jest danych o kształtowaniu się ekspresji mRNA dla genów GnRH-I, VIP, LH β i PRL w okresie użytkowania reprodukcyjnego u gęsi domowych, przy uwzględnieniu różnych warunków dnia świetlnego. W przypadku gęsi krótkiego dnia stwierdzono zmiany w ekspresji genów PRL i VIP na poziomie mRNA w zależności od warunków mikrośrodowiska. Ponadto zanotowano dodatnią interakcję pomiędzy poziomem ekspresji mRNA dla PRL a stężeniem hormonu we krwi. Nie wykazano natomiast wpływu zmiany długości dnia na ekspresję genów LH β i GnRH-I, pomimo zmian w stężeniu LH we krwi (Huang i wsp., 2008).

W czasie sezonu reprodukcyjnego (Islam i wsp., 2010, Leska i wsp., 2012) i w różnych warunkach fotoperiodu (Akazome i wsp., 2002; Borys, 1981) u samców ptaków następują zmiany w masie, steroidogenicznej aktywności oraz poziomie spermatogenezy w nabłonku plemnikotwórczym jąder. W konsekwencji intensywność produkcji nasienia i jego jakość zmienia się, co oddziałuje na płodność samców (Penfold i wsp., 2000). U europejskich szpaków (*Sturnus vulgaris*) wykazano, że na skutek przemian endokrynych, na początku okresu fotorefrakcji następuje regresja jąder poprzez proces apoptozy (Young

i Nelson, 2001). Efektywny neuroendokryny mechanizm współzależności pomiędzy optymalnym czasem dla reprodukcji i aktywnością osi podwzgórze-przysadka-gonady musi modulować okres sezonowej reinicjacji, zachowania na stabilnym poziomie i ostatecznej regresji spermatogenezy oraz steroidogenezy. Udział zmian w syntezie/sekrecji PRL w procesie produkcji nasienia u ptaków nie jest jednoznacznie określony.

W badaniach opublikowanych w pracy **H.4.** analizowano ekspresję genów GnRH-I, VIP, LH β , PRL, PRLR na poziomie mRNA w sześciu różnych okresach sezonu rozrodczego dwuletnich gęsiów. Oznaczenia wykonywano w czasie przygotowania do rozrodu, fotostymulacji, w szczycie nieśności, w drugiej połowie reprodukcji i w jej końcowym okresie oraz po zakończeniu rozrodu. Ponadto w szczycie nieśności wyznaczono dodatkową grupę ptaków, którą poddano działaniu długiego dnia świetlnego odpowiadającego w warunkach naturalnych okresowi później wiosny-lata. W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano, że po fotostymulacji (styczeń) wykonanej w ramach praktyki hodowlanej, zarówno ekspresja mRNA dla genów GnRH-I oraz LH β jak również stężenie T i LH we krwi były wyższe w porównaniu do stwierdzonych po zakończeniu rozrodu (lipiec). W tym okresie w nabłonku kanalików nasiennych wykazano wszystkie stadia spermatogenezy oraz wzrost stężenia T w tkance jader, co wskazuje na sezonową reinicjację spermatogenezy i steroidogenezy. Natomiast w trakcie sezonu rozrodczego istotnym wahaniom w stężeniu T i LH towarzyszyły nieznaczne zmiany w ekspresji genów GnRH-I oraz LH β . Można sugerować, że fotostymulacja u gęsiów domowych wpływa na syntezę GnRH-I mRNA i prawdopodobnie na uwalnianie białka z oddziaływaniem na LH β w przysadce. Neuroendokryna oś związana z produkcją GnRH-I/LH wydaje się odgrywać główną rolę w regulacji początku sezonowej reprodukcji gęsiów. Przebudowa jader w okresie sezonowej reaktywacji wymaga proliferacji komórek nabłonka plemnikotwórczego i aktywacji steroidogennej która podlega

kompleksowej regulacji z pośrednictwem negatywnego sprzężenia zwrotnego FSH/ LH. Nie można przy tym wykluczyć mediacyjnej roli systemu VIP/PRL. Przy niskim stężeniu PRL na początku sezonu rozrodczego może oddziaływać na receptory LH w jądrach zwiększając wrażliwość gonad na stymulację LH (Zhang i wsp., 1995). Wraz z postępem sezonu obserwowano wzrost stężenia PRL korespondujący z analogicznymi zmianami poziomu transkryptu dla genów VIP oraz PRL. Natomiast, po zakończeniu sezonu rozrodczego (lipiec) poziom transkryptu GnRH-I był niski w porównaniu do okresu fotostymulacji, co może sugerować rozpoczęcie procesu zmierzającego do fotorefrakcji. Jest to prawdopodobnie jego początkowy etap. Wzrost neuroendokrynej aktywności systemu VIP/PRL hamuje uwalnianie GnRH-I (Rozenboim i wsp., 1993) i GnRH/LH (Pitts i wsp., 1993) u indyków. Ponadto, aktywna immunizacja przeciw VIP hamuje wzrost stężenia PRL we krwi i opóźnia początek redukcji nieśności w końcowym okresie użytkowania indyczek (El Halawani i wsp., 1995; El Halawani i wsp., 2000). Także u kur mięsnych (Avital-Cohen i wsp., 2013) wykazano, że wysokie stężenie PRL we krwi indukuje redukcję gonad następującą z wiekiem ptaków. Z kolei, w wykonanych badaniach ekspresja transkryptu mRNA dla PRLR w jądrach była wyższa tylko w ostatnim okresie reprodukcji w porównaniu do szczytu aktywności płciowej. Potencjalne działanie antyspermatogenne i antysteroidogenne hiperprolaktynemii potwierdza obserwowana redukcja parametrów histomorfometrycznych jąder oraz stężenia T w tkance w końcowym okresie rozrodu.

W okresie użytkowania gęsi stosowanie krótkiego dnia świetlnego wpływa korzystnie na efektywność produkcji jaj i jest zalecane dla stad reprodukcyjnych. W stadach utrzymywanych bez reżimu świetlnego następuje skrócenie okresu nieśności. W przeprowadzonym doświadczeniu (**H.3.**) po okresie sześciu tygodni ekspozycji gęsiorków w szczycie nieśności (marzec) na warunki długiego dnia (LD-16 h) zanotowano obniżenie

stężenia LH i T oraz wzrost PRL we krwi bez oddziaływania na ekspresję genów osi podwzgórze-przysadka-gonady w porównaniu do grupy utrzymywanej w reżimie świetlnym krótkiego dnia (SD-10 h). Nie wykazano również zmian w obrazie histologicznym i w aktywności steroidogennej jąder. Można więc sugerować, że długi dzień świetlny w okresie wiosny stymuluje początkowy okres zmian w sekrecji hormonów osi podwzgórze-przysadka-gonady (częstotliwość pulsów lub/i amplitudę) zapoczątkowując negatywne przemiany w aktywności rozrodczej. Także inne czynniki jak stymulująca rola obecności samic czy temperatura otoczenia mogą modulować wieloetapową odpowiedź w czasie późniejszej fotorefrakcyjności. Według Young i wsp., (2001) u europejskich szpaków regresja jąder następuje po 5-9 tygodniach ekspozycji na warunki LD wraz ze wzrostem liczby komórek apoptycznych obserwowanym po 6 tygodniach.

Wyniki uzyskane w przedstawionych badaniach wskazują, że redukcja płodności w drugiej połowie sezonu rozrodu gęsi domowych, wyrażana obniżeniem zapłodnienia jaj, związana jest ze zmniejszeniem częstotliwości krycia korespondującym z niskim stężeniem T we krwi. Obniżenie wydajności reprodukcyjnej pokrywa się z redukcją parametrów jakościowo-ilościowych nasienia, identyfikowanych metodami konwencjonalnymi jak i z zastosowaniem cytometrycznej oceny integralności błony komórkowej, której towarzyszą podobne zmiany stężenia T, LH oraz przeciwnie zwiększenie poziomu PRL.

Wykazane w okresie sezonu reprodukcyjnego gęsi zmiany w profilu stężenia T, LH i PRL korespondują z kierunkiem przemian w ekspresji mRNA dla GnRH-I, VIP, LH β i PRL w osi podwzgórze-przysadka. Obserwowane w końcowym okresie rozrodu obniżenie tempa transkrypcji dla GnRH-I i LH β jest przy tym poprzedzone zwiększeniem ekspresji mRNA dla VIP oraz PRL. Notowane w wiosennym okresie rozrodu zmiany w

syntezie i/ lub sekrecji T, LH, PRL mogą być dodatkowo stymulowane ekspozycją ptaków w warunkach długiego dnia świetlnego, co może przyczyniać się do przyspieszenia negatywnych zmian w zdolności reprodukcyjnej u indywidualnych samców.

Wysokie stężenie PRL we krwi, w końcowym okresie rozrodu gęsi, przy negatywnej interakcji z poziomem T we krwi i tkance jąder oraz obniżeniem liczby oraz jakości komórek płciowych sugeruje udział PRL w modulacji intensywności procesu steroidogenezy i spermatogenezy u gęsi.

Wykazane wahania w obwodowym stężeniu T4 i T3 w sezonie rozrodu gęsi sugerują kontynuację badań na poziomie zmian w osi podwzgórze-przysadka w zakresie ekspresji mRNA dla hormonu uwalniającego tyreotropinę (TRH) i hormonu tyreotropowego (TSH) oraz aktywności enzymów uczestniczących w lokalnej konwersji T4 do T3, w powiązaniu z okresem fotostymulacji oraz procesem pierzenia.

W oparciu o wyniki badań proponuje się uwzględnienie w pracy hodowlanej w stadach reprodukcyjnych gęsi domowych monitoringu behawioru płciowego, w odniesieniu do analizy częstotliwości krycia. Ocenę aktywności płciowej zaleca się przeprowadzać w godzinach porannych, w okresie obejmującym około jedną trzecią dnia świetlnego. Najkorzystniejszych wyników zapłodnienia, uwzględniając efektywność i stabilny poziom w całym okresie użytkowania reprodukcyjnego, można oczekiwać od samców charakteryzujących się średnimi rezultatami częstotliwości krycia. Analiza behawioru płciowego może ułatwić eliminację z rozrodu gęsi o niskim potencjale reprodukcyjnym, a przez to o obniżonych rokowaniach na długookresowy sukces rozrodczy. W przypadku samców o korzystnych cechach hodowlanych można rozpatrywać zastosowanie metod wspomagania rozrodu.

Przy zestawianiu stada reprodukcyjnego gęsi należy uwzględnić konieczność zapewnienia warunków do kształtowania interakcji socjalnych samce-samice na początku

sezonu rozrodczego i oddziaływanie doświadczenia behawioralnego samic na efektywność zapłodnienia.

Zmienność indywidualna w parametrach jakościowo-ilościowych nasienia wskazuje na zasadność próby zastosowania wyników oceny jako jednego z kryteriów doboru gęsiów w stadkach selekcyjnych. Należy jednak ustalić czy zachodzi współzależność pomiędzy parametrami jakości nasienia i wynikami zapłodnienia w warunkach naturalnego kojarzenia.

Piśmiennictwo

- Akazome Y., Abe T., Mori T. 2002. Differentiation of chicken gonad as an endocrine organ: expression of LH receptor, FSH receptor, cytochrome P450c17 and aromatase genes. *Reproduction*, 123: 721-728.
- Akesson T. R., Raveling D. G. 1982. Behaviors associated with seasonal reproduction and long-term monogamy in Canada Geese. *Condor*, 84: 188-196.
- Avital-Cohen N., Heiblum R, Argov –Argaman N., Rosenstrauch A, Chaiseha Y, Mobarkey N, Rozenboim I. 2013. Age-related changes in gonadal and serotonergic axes of broiler breeder roosters. *Domestic Animal Endocrinology*, 44: 145-150.
- Bernon D. B., Siegel P. B. 1983. Mating frequency in male chickens: crosses among selected and unselected lines. *Genetics Selection Evolution*, 15: 445-454.
- Birkhead T. R., Chaline N., Biggins J. D., Burke T. A., Pizzari T. 2004. Non-transitivity of paternity in bird. *Evaluation*, 58: 416-420.
- Borys H. 1981. Wpływ skróconego dnia świetlnego w okresie wychowu gęsiów na rozwój jąder i zdolność reprodukcyjną w pierwszym sezonie rozplodowym. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, 8 (2): 11-24.

- El Halawani M. E., Silsby J. L., Rozenboim I, Pitts G. R. 1995. Increased egg production by active immunization against vasoactive intestinal peptide in the turkey (*Meleagris gallopavo*). *Biology of Reproduction*, 52: 179-183.
- El Halawani M. E., Whiting S. E., Silsby J. L., Pitts G. R., Chaiseha Y. 2000. Active immunization with vasoactive intestinal peptide in the turkey hens. *Poultry Science*, 79: 349-354.
- Elminowska-Wenda G., Rosiński A. 1993. Effects of day length on the reproductive performance of White Italian geese. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, 20. (2): 339-351
- Gillette D. D. 1977. Mating and other behavior of domestic geese. *Applied Animal Ethology*, 3: 305-319.
- Hirschenhauser K., Möstl E., Kotrschal K. 1999a. Seasonal patterns of sex steroids determined from feces in different social categories of Greylag geese (*Anser anser*). *General and Comparative Endocrinology*, 114: 67-79.
- Hirschenhauser K., Möstl E., Kotrschal K. 1999b. Within-pair testosterone covariation and reproductive output in Greylag geese (*Anser anser*). *Ibis*, 141: 577-586.
- Hirschenhauser K., Weiß B. M., Haberl W., Möstl E., Kotrschal K. 2010. Female androgen patterns and within – pair testosterone compatibility in domestic geese (*Anser domesticus*). *General and Comparative Endocrinology.*, 165: 195-203.
- Huang Y. M., Shi, Z. D., Liu Z., Liu Y., Li X. W. 2008. Endocrine regulations of reproductive seasonality, follicular development and incubation in Magang geese. *Animal Reproduction Science*, 104: (2-4): 344-358.
- Islam M. N., Zhu Z. B., Aoyama M., Sugita S. 2010. Histological and morphometric analyses of seasonal testicular variations in the Jungle Crow (*Corvus macrorhynchos*). *Anatomical Science International*, 85:121-129.

- Jones M. E. J., Mench J. A. 1991. Behavioral correlates of male mating success in a multisire flock as determined by DNA fingerprinting. *Poultry Science*, 70: 1493-1498.
- Leska A., Dusza L. 2008. Seasonal changes in the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in birds. *Reproductive Biology*, 7(2): 99-126
- Leska A., Kizun J., Kamińska B., Dusza L. 2012. Seasonal changes in the expression of the androgen receptor in the testis of the domestic goose (*Anser anser f. domestica*). *General and Comparative Endocrinology*, 179: 63-70.
- Łukaszewicz E. 2002. Kriokonserwacja nasienia gęsi *Anser anser L.* Zeszyty Naukowe AR we Wrocławiu. Rozprawy. Nr 440: 7-111
- Łukaszewicz E., Kruszyński W., Fujihara N. 2003. Effect of age on quality of fresh and frozen-thawed semen in White Italian ganders. *Asian Journal of Andrology*, 5 (2): 89-93.
- Nakao N., Ono H., Yoshimura T. 2008. Thyroid hormones and seasonal reproductive neuroendocrine interactions. *Reproduction*, 136:1-8.
- Ono H., Nakao N., Yoshimura T. 2009. Identification of the photoperiodic signaling pathway regulating seasonal reproduction using the functional genomics approach. *General and Comparative Endocrinology*, 163: 2-6.
- Partyka A., Łukaszewicz E., Nizański W. 2011. Flow cytometric assessment of fresh and frozen-thawed Canada goose (*Branta canadensis*) semen. *Theriogenology*, 76 (5): 843-50.
- Péczely P., Bogenfürst F., Kulcsár M., Polgár B. 2011. Role of gonadal and adrenal steroids and thyroid hormones in the regulation of molting in domestic goose. *Acta Biologica Hungarica*, 62 (1): 1-21.

- Péczely P., EL Halawani M. E., Hargitai C. S., Mézes M., Forgó V., Jánosi Sz. 1993. The photorefractorines in domestic goose: effect of gonads and thyroid on the development of postbreeding prolactinemia. *Acta Biologica Hungarica*, 44 (4): 329-352.
- Penfold L. M., Wildt D. E., Herzog T. L., Lynch W., Ware L., Derrickson S. E., Monfort S. L. 2000. Seasonal patterns of LH, testosterone and semen quality in the Northern pintail duck (*Anas acuta*). *Reproduction Fertility Development*, 12: 229-235.
- Pitts G. R., Youngren O. M., Siliby J. L., Foster L. K., Foster D. N., Rozenboim I. 1994. Role of vasoactive interstitial peptide in the control of prolactin-induced turkey incubation behavior I. Acute infusion of vasoactive intestinal peptide. *Biology of Reproduction*, 50: 1344-1349.
- Rosiński A. 1986. Badania nad zachowaniem płciowym gęsi. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, 13 (1): 43-57.
- Rozenboim I., Siliby J. L., Tabibzadeh C, Pitts G. R, Youngren O. M., El Halawami M. E. 1993. Hypothalamic and posterior pituitary content of vasoactive interstitial peptide and gonadotrophin releasing hormones I and II in the turkey hen. *Biology of Reproduction*, 48: 622-626.
- Sharp P. J. 2005. Photoperiodic regulation of seasonal breeding in birds. *Annals New York Academy of Sciences*, 1040: 189-199.
- Sharp P. J., Blache F. 2003. A neuroendocrine model for prolactin as the key mediator of seasonal breeding in birds under long- and short-day photoperiods. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 81: 350-358.
- Shi Z. D., Huang Y. M., Liu Z., Liu Y., Li X. W., Proudman J. A., Yu R. C. 2007. Seasonal and photoperiodic regulation of secretion of hormones associated with

- reproduction in Magang goose ganders. *Domestic Animal Endocrinology*, 32: 190-200.
- Szado J., Kapkowska E., Rabsztyn A. 1995. Pattern of diurnal rhythm in oviposition of the Zatorska geese. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, 22: 131-141.
- Yang H. M., Wang Y., Wang Z. Y., Wang X. X. 2017. Seasonal and photoperiodic regulation of reproductive hormones and related genes in Yangzhou geese. *Poultry Science*, 96 (2): 486-490.
- Yoshimura T. 2010. Neuroendocrine mechanism of seasonal reproduction in birds and mammals. *Animal Science Journal*, 81: 403-410.
- Young K. A., Ball G.F., Nelson R. J. 2001. Photoperiod- induced testicular apoptosis in European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Biology of Reproduction*, 64:706-713.
- Young K. A., Nelson R. J. 2001. Mediation of seasonal testicular regression by apoptosis. *Reproduction*, 122: 677-685.
- Zhang F. P., Rannikko A, Toppari J., Bartke A, Huhtaniemi I. 1995. Developmental expression of the prolactin receptor gene in rat gonads. *Journal of Endocrinology*, 147: 497-505.

4. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo- badawczych (artystycznych).

Początkowy etap mojej pracy naukowej związany był z badaniami rytmu nieśności kur. Analizy w tym zakresie rozpoczęłam na czwartym roku studiów w ramach realizacji pracy magisterskiej. Pracę magisterską pt. „Rytm nieśności kur mięsnych” wykonałam w Zakładzie Hodowli Drobiu Akademii Rolniczej w Krakowie pod kierunkiem dr hab. Ewy Kapkowskiej. Obrona pracy odbyła się w 1995 roku, w jej wyniku uzyskałam stopień magistra inżyniera zootechniki. Materiał zebrany i opracowany w ramach pracy magisterskiej został zaprezentowany na konferencji naukowej (*wykaz osiągnięć D.11.*) oraz opublikowany w formie oryginalnej pracy (*wykaz osiągnięć K.12.*).

Ptaki domowe charakteryzują się rytmem nieśności, na który składają się serie znoszonych codziennie jaj i występujące po nich przerwy. Zarówno długość serii jak i przerw może być regularna i nieregularna. Liczba jaj znoszonych w kolejnych dniach jest różna, począwszy od jednego do trzydziestu i więcej. Przeprowadzone przeze mnie badania dowiodły, że kury mięsne znoszą jaja najczęściej w seriach jedno- do trzyjajowych oddzielonych jednodniowymi przerwami. Przebieg nieśności ptaków o wysokiej produktywności charakteryzował się dużą liczbą długich serii i małą liczbą przerw. Liczba jaj znoszonych w serii zmniejszała się wraz z wiekiem kur. Ponadto wykazano istotną, dodatnią korelację pomiędzy liczbą jaj zniesionych w najdłuższej serii a ogólną liczbą jaj. Wskazuje to na możliwość wykorzystania informacji o liczbie jaj w najdłuższej serii przy ocenie wartości reprodukcyjnej niosek.

Po ukończeniu studiów odbyłam pięciomiesięczny staż na stanowisku zootechnika w Ośrodku Doradztwa Rolniczego w Częstochowie. Następnie rozpoczęłam studia doktoranckie na Wydziale Zootechnicznym Akademii Rolniczej w Krakowie. Od początku studiów aktywnie włączałam się w badania realizowane w Zakładzie Hodowli Drobiu, których głównym celem była ocena morfometryczna układu rozrodczego kur domowych w

zależności od ich wieku (*wykaz osiągnięć D.12., D.13.*). Moje zainteresowania badawcze zostały również ukierunkowane na problematykę związaną z żywieniem kur typu mięsnego (*wykaz osiągnięć D.14., D.15., D.17., D.18.*). U kur mięsnych koniecznością jest stosowanie systemu ograniczania ilości podawanej paszy. Wraz z opiekunem naukowym podjęłam więc badania, których celem było opracowanie metod alternatywnych dla ilościowego ograniczania dziennej dawki paszy. W prowadzonych przeze mnie eksperymentach analizowano stosowanie w okresie nieśności kur, mieszanek z 20 % udziałem zmielonych łusek owsianych. Poprzez dodatek łusek możliwe było zastosowanie o około 15 % wyższej dziennej dawki paszy bez negatywnego oddziaływania na termin uzyskania dojrzałości płciowej i przebieg produkcji jaj. Można przy tym założyć, iż zwiększenie dawki paszy wpłynęło korzystnie na dobrostan ptaków. Wyniki tych badań zaprezentowałam między innymi w doniesieniu o zastosowaniu łusek owsianych jako przykładu jakościowego ograniczania paszy (*wykaz osiągnięć D.16.*). Ograniczanie ilości paszy jest szczególnie restrykcyjne w wychowie kur mięsnych i dlatego właśnie w tym okresie, nie tylko testowano dodatek do paszy łusek owsianych, ale także badano możliwość stosowania różnych farmakologicznych środków obniżających apetyt. Wykazano, że zastosowane środki nie wywierały wpływu analogicznego do ilościowego ograniczania paszy. Ponadto ich podawanie jest kontrowersyjne z punktu widzenia zdrowotnego. Dlatego dodatek do paszy łusek owsianych, również w okresie wychowu stada, może być bardziej „naturalną” i akceptowaną przez opinię publiczną drogą łagodzenia stresu wynikającego z restrykcyjnego żywienia kurek. Wyniki przeprowadzonych badań zostały przeze mnie zaprezentowane w czasie europejskiego sympozjum dotyczącego dobrostanu drobiu (*wykaz osiągnięć K.22.*).

W tym okresie uczestniczyłam także w pracach nad modyfikacją profilu kwasów tłuszczowych w żółtkach jaj kur typu nieśnego (*wykaz osiągnięć K.13.*). Przeprowadzone

eksperymenty wykazały korzystny, z punktu widzenia zdrowia konsumentów, wpływ zastosowania w żywieniu kur nieśnych śruty jęczmiennej i nasion wiesiołka na zwiększenie poziomu jednonienasyconych oraz wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w żółtkach.

W celu poszerzenia wiedzy i podniesienia swoich kwalifikacji, w trakcie studiów doktoranckich uczestniczyłam w miesięczny kursie dotyczącym produkcji drobiu zorganizowanym przez Uniwersytet Hebrajski w Jerozolimie. W trakcie kursu zapoznałam się między innymi z zagadnieniami dotyczącymi fizjologicznych czynników decydujących o długości okresu płodności u ptaków o sezonowym rozrodzie. Odbylam także jednotygodniowe staże w Instytucie Zootechniki-PIB oraz na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu, w czasie których poznałam zasady oceny jakości jaj oraz metody pozyskiwania i oceny ejakulatów ptaków domowych.

Wraz z realizacją doświadczeń do pracy doktorskiej rozpoczęłam nowy rozdział pracy naukowej związany z zagadnieniami płodności ptaków domowych, który z czasem stał się głównym nurtem moich zainteresowań. Prace doktorską pt. „Badania nad długością okresu znoszenia zapłodnionych jaj u kur” obroniłam w czerwcu 2001 roku uzyskując stopień doktora nauk rolniczych w zakresie zootechniki. Praca została wykonana w Zakładzie Hodowli Drobiu Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Akademii Rolniczej im. Hugona Kołłątaja w Krakowie pod kierunkiem dr hab. Ewy Kapkowskiej. Dysertację recenzowali: prof. dr hab. Bronisława Chełmońska oraz prof. dr hab. Marek Bednarczyk. Praca została wyróżniona przez Radę Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt.

Wiek ma negatywny wpływ na sukces reprodukcyjny ptaków. Skuteczne przeciwdziałanie obniżaniu się zapłodnienia jaj z wiekiem stad nie jest możliwe bez znajomości czynników warunkujących niższą płodność w drugiej połowie ich użytkowania. Istotne jest również poznanie i wdrożenie różnych metod weryfikacji

wydajności reprodukcyjnej. Dlatego tym zagadnieniom poświęciłam część prac opublikowanych po doktoracie (*wykaz osiągnięć J.1., K.14., K.15., K.16., K.17.*) oraz zaprezentowałam kilka doniesień (*wykaz osiągnięć D.1., D.2., D.19., D.20., D.24., D.27., D.46.*) na konferencjach naukowych. W badaniach wykonanych na kurach mięsnych (*wykaz osiągnięć K.18.*), w warunkach naturalnego kojarzenia, określałam zapłodnienie jaj oraz zastosowałam nową metodę kontroli płodności- test penetracji plemników (TPP). Pozwala on na oznaczenie w przybliżeniu liczby plemników penetrujących błonę okołozółtkową komórki jajowej, co z kolei wskazuje na zdolność reprodukcyjną zarówno samca jak i samicy. Przeprowadzone przeze mnie badania wykazały duże różnice w wynikach testu pomiędzy początkowy, środkowym i końcowym etapem cyklu reprodukcyjnego, którym odpowiadało stopniowe obniżanie się zapłodnienia jaj. W warunkach naturalnego kojarzenia TPP może dostarczać informacji o początku zmniejszania się efektywności krycia przed wystąpieniem obniżenia zapłodnienia jaj. Odpowiednio wczesne zastosowanie zabiegów hodowlanych w stadach może pozwolić na zmniejszenie strat ekonomicznych. W kolejnych badaniach (*wykaz osiągnięć J.1.*) analizowałam długość okresu znoszenia zapłodnionych jaj oraz stosowałam TPP na przestrzeni okresu użytkowania stada kur mięsnych utrzymywanych w warunkach sztucznej inseminacji. Wykorzystanie sztucznej inseminacji pozwoliło na wykluczenie wpływu zmian w behawiorze płciowym jako czynnika oddziałującego na zdolność reprodukcyjną. Inseminację przeprowadzano sześciokrotnie w okresie od 30 do 62 tygodnia życia stada. W drugiej połowie użytkowania analizowane parametry płodności uległy obniżeniu. Zastosowanie nasienia od młodych samców nie wpłynęło korzystnie na wyniki zapłodnienia co pozwala sugerować, iż z wiekiem kur mięsnych zmniejsza się efektywność magazynowania plemników w kanalikach zlokalizowanych w jajowodzie. W poszukiwaniu przyczyn niższej wydajności reprodukcyjnej stad w drugiej połowie ich

użytkowania określałam również zmiany w liczbie plemników zatrzymanych w warstwie pozażółtkowej jaj (wykaz osiągnięć K.14.). Sztuczną inseminację wykonywano w 36. a następnie w 62 tygodniu życia kur wykorzystując ejakulatory pozyskiwane od kogutów w wieku 36 tygodni. Podobnie jak w poprzednim doświadczeniu, u starszych kur wykazano niższą liczbę plemników zatrzymanych w warstwie pozażółtkowej jaj znoszonych w kolejnych dniach po inseminacji. Wyniki pozwalają sugerować istotną rolę zmian mikrośrodowiska jajowodu w kształtowaniu płodności wraz z wiekiem kur. Kolejne badania z tego zakresu realizowałam na gęsiach domowych. Określałam długość okresu znoszenia zapłodnionych jaj w warunkach naturalnego kojarzenia (wykaz osiągnięć K.19.) oraz wykorzystywałam TPP do szacowania aktywności płciowej różnych grup wiekowych gęsi (wykaz osiągnięć K.23.). Badania wykazały, że efektywna długość okresu znoszenia zapłodnionych jaj wynosi u gęsi około 10 dni, natomiast maksymalna 12 dni. Ponadto, wiek gęsiorów nie wpływa na wyniki TPP ale ulegają one istotnemu obniżeniu wraz z postępującym sezonem reprodukcyjnym, kształtując się na niższym poziomie w maju w porównaniu do okresu marzec-kwiecień.

Problemy występujące w rozrodzie gęsi stały się inspiracją do ubiegania się o projekt badawczy pt.: „Zdolność reprodukcyjna gęsiorów gęsi domowej (*Anser anser f. domesticus*) jako ptaków o sezonowej aktywności rozrodczej” (N N311 317136), który realizowałam w latach 2009-2012. Większość wyników badań uzyskanych z tego zakresu przedstawiono jako główne osiągnięcie naukowe (wykaz osiągnięć H.1., H.2., H.3., H.4.). Wyniki badań prezentowałam też na konferencjach naukowych o zasięgu krajowym i międzynarodowym (wykaz osiągnięć D.3., D.5., D.6., D.34., D.35., D.36., D.37., D.39., D.40., D.41., D.43., D.45.). Wspomniany projekt realizowany był we współpracy naukowej z pracownikami Uniwersytetu Hebrajskiego w Jerozolimie. W celu poszerzenia warsztatu badawczego w 2009 roku odbyłam staż w Instytucie Zootechniki-PIB w Dziale

Biotechnologii Rozrodu Zwierząt, w czasie którego poznałam nowe techniki oceny jakości ejakulatów zwierząt gospodarskich, między innymi z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Miałam również możliwość zastosowania ich w odniesieniu do nasienia gęsi (wykaz osiągnięć D.3., D.36., D.40.). W trakcie wykonywania projektu badawczego uczestniczyłam również w dwóch specjalistycznych kursach dotyczących techniki Real Time PCR oraz immunodetekcji białek.

Po zakończeniu projektu kontynuowałam badania nad płodnością gęsi, koncentrując się głównie na zagadnieniach behawioru płciowego. Analizowałam między innymi aktywność płciową gęsi w zależności od wieku i pozycji w hierarchii socjalnej przy wolnym systemie krycia (wykaz osiągnięć J.9., D.9.). W badaniach tych uwzględnione zostały jedno- i dwuletnie gęsiory oraz jednoroczne gęsi. Wykazano, że częstotliwość kopulacji, zachowań antagonistycznych oraz poziom zapłodnienia i stężenie testosteronu we krwi były wyższe dla samców dwuletnich w porównaniu do jednorocznych. Pozycja gęsiory w hierarchii socjalnej wpływała na aktywność płciową przy wyższej częstotliwości skutecznego krycia dla dominujących samców. Sukces reprodukcyjny w stadach gęsi jest więc związany z wiekiem gęsiory jako efekt oddziaływania wielu czynników, między innymi doświadczenia w relacjach socjalnych i większej efektywności krycia.

Zainteresowania zachowaniem ptaków domowych zaowocowały również współautorstwem w publikacji (wykaz osiągnięć J.7.) poświęconej postrzeganiu środowiska przez zwierzęta domowe. Napisałam w niej rozdział dotyczący narządów zmysłów u ptaków, charakteryzując równocześnie sposób odbierania przez nie otoczenia w warunkach intensywnego chowu. W pracy tej zwróciłam również uwagę na konieczność dostosowania warunków środowiskowych, zwłaszcza w okresie wychowu, do potrzeb ptaków w celu zapewnienia im dobrostanu.

Oprócz przytoczonych powyżej badań z zakresu płodności ptaków współuczestniczyłam w pracach zespołu z Uniwersytetu Hebrajskiego mających na celu określenie endokrynnego podłoża niskiej wydajności reprodukcyjnej kogutów typu mięsnego w końcowym okresie użytkowania (*wykaz osiągnięć J.6.*). Analizy wykazały, że jedną z przyczyn redukcji płodności może być wzrost aktywności układu serotoninerгіcznego. Serotonina może hamować oś podwzgórze-przysadka bezpośrednio przez supresję syntezy hormonu uwalniającego gonadotropiny (GnRH-I) i sekrecji hormonu luteinizującego (LH) oraz pośrednio, przez oś laktotropową obejmującą naczynioaktywny peptyd jelitowy (VIP) i prolaktynę (PRL). Hamowanie enzymu uczestniczącego w biosyntezie serotoniny oraz aktywna immunizacja przeciw VIP istotnie zwiększały wydajność reprodukcyjną samców.

Współpraca z Zakładem Anatomii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie i Instytutem Zootechniki-PIB zwróciła moją uwagę na problematykę związaną z jakością mięsa. Podjęłam badania nad analizą profilu histochemicznego mięśni oraz oceną parametrów jakości mięsa gęsi zatorskich (*wykaz osiągnięć J.3., K.21., D.21., D.22., D.23., D.25., D.29.*). Przeprowadzone przeze mnie badania pozwoliły na określanie przydatności tej rodzimej rasy gęsi do tuczu owianego (*wykaz osiągnięć J.5., K.24., D.4., D.26., D.31.*) oraz na porównanie jej wyników z osiąganymi przez komercyjne mieszańce gęsi Białych Kołodzkich®. W odniesieniu do gęsi zatorskich uzyskano preferowaną obecnie przez konsumentów niższą masę tuszki z mniejszym udziałem skóry i tłuszczu oraz odnotowano porównywalne parametry jakości mięsa. Wskazuje to na możliwość poszerzenia oferty produkcji gęsiny o ptaki utrzymywane w stadach objętych programem ochrony zasobów genetycznych drobiu wodnego.

Poza głównymi nurtami badań podejmowałam się również analizy innych zagadnień związanych z aktualnymi problemami w chowie i hodowli drobiu oraz ptaków

ozdobnych. Część doświadczeń wykonywałam w ramach współpracy ze studentami Sekcji Hodowli Drobiu Koła Naukowego Zootechników której byłam opiekunem. Oceniano wyniki produkcyjne i ekonomiczne ferm brojlerów kurzych w okresie występowania w krajach europejskich ptasiej grypy. Wykazano, iż pomimo dobrych wyników produkcyjnych dochód netto ferm uległ w tym czasie obniżeniu (*wykaz osiągnięć J.2.*). Analizowano także jakość różnych produktów pozyskiwanych od ptaków domowych w tym pierza (*wykaz osiągnięć D.28., D.32.*) i jaj pochodzących od kur utrzymywanych w warunkach z dostępem do wybiegów oraz w chowie ekologicznym (*wykaz osiągnięć J.11., D.7., D.30., D.33., D.38.*). Wykazano wpływ zmiany warunków na wybiegach w zależności od pory roku, na wybrane parametry jakości jaj. Ponadto, w ostatnich latach, poświęciłam wiele uwagi hodowli ptaków ozdobnych (*wykaz osiągnięć D.8., D.10., D.42., D.44.*). Szczególnie zainteresowałam się kiścicem annamskim, który w warunkach naturalnych zagrożony jest całkowitym wyginięciem (*wykaz osiągnięć K.25.*). Jako współautorka pracy przedstawiłam wyniki rozrodu kilku par bażantów w hodowli wolierowej. Nie można wykluczyć, że w przyszłości w celu poprawy efektywności hodowli tego gatunku zastosowane zostaną techniki wspomaganego rozrodu.

Kury mięsne utrzymywane są w celu produkcji jaj wylęgowych. Wartość biologiczna jaj znoszonych w kolejnych seriach może mieć istotny wpływ na jakość produkowanych piskląt. Dlatego część pracy poświęciłam analizie czasu znoszenia kolejnych jaj w seriach oraz określeniu zależności pomiędzy pozycją jaja w serii i jego jakością. Wykazałam, że wraz z wydłużaniem się serii kolejne jaja znoszone są wcześniej po rozpoczęciu dnia świetlnego a odstępy pomiędzy kolejnymi jajami w serii ulegają skróceniu. Natomiast nie obserwowano zależności pomiędzy pozycją jaj w serii i jakością ich komponentów (*wykaz osiągnięć J.4.*).

Z ekonomicznego punktu widzenia w produkcji jaj wylęgowych ważne jest także znalezienie odpowiedniego modelu matematycznego, który mógłby posłużyć do przewidywania nieśności u kur mięsnych. Wybrany model można by wykorzystać do optymalizacji strategii hodowlanej w stadach. Dlatego w kolejnej pracy porównywano cztery modele matematyczne (Gamma, Narushin-Takma, Logistic-curvilinear, Compartmental) służące do opisu zmiany masy jaj oraz przebiegu nieśności u kur mięsnych. Wybrane modele dopasowano do danych z całego stada oraz oddzielnie dla trzech grup różniących się poziomem nieśności. Dokładność dopasowania modeli do danych sprawdzono stosując trzy kryteria: współczynnik determinacji, średni kwadrat błędu oraz kryterium informacyjne Akaike. Na podstawie wymienionych kryteriów dobroci dopasowania stwierdzono, że najlepszy stopień dopasowania do danych dotyczących masy jaj jak i nieśności kur mięsnych wykazał model logistic-curvilinear. Model ten najlepiej opisywał badane cechy w całym stadzie kur mięsnych oraz w trzech grupach produkcyjnych (*wykaz osiągnięć J.8.*).

Ostatnio rozpoczęłam nowy rozdział pracy związany z analizą wpływu stymulacji brojlerów kurzych w okresie inkubacji i po wylęgu światłem o różnej długości fali na ich wzrost. Byłam współautorką referatu wygłoszonego w sesji plenarnej Światowego Kongresu Drobiarskiego (*wykaz osiągnięć D.47.*). W dotychczasowych badaniach wykazano, iż stymulacja piskląt po wylęgu monochromatycznym światłem zielonym i niebieskim wpływa korzystnie na tempo ich wzrostu oraz rozwój masy mięśni piersiowych. W badaniach (*wykaz osiągnięć J.10.*), w których uczestniczyłam, testowano wpływ przerywanego stosowania monochromatycznego światła niebieskiego w okresie inkubacji jaj kur mięsnych na aktywność osi somatotropowej. U zarodków w grupie doświadczalnej wykazano wzrost stężenia we krwi hormonu wzrostu i prolaktyny. Ponadto zanotowano wzrost ekspresji na poziomie mRNA hormonu uwalniającego hormon wzrostu

(GHRH) w podwzgórzcu oraz receptorów hormonu wzrostu (GHR) i insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) w wątrobie. Nie zanotowano natomiast zmian w masie ciała oraz w masie mięśni piersiowych i wątroby. Potrzebne są jednak dalsze badania, które pozwolą na wyjaśnienie zależności pomiędzy fotoreceptorami i mechanizmem odpowiadającym za wzrost ekspresji genów osi somatotropowej.

Kraków, dnia 14.03.2017r

dr inż. Małgorzata Gumułka

