

STRESZCZENIE

Endokryne aspekty fizjologii rozrodu babki byczej (*Neogobius melanostomus*)
ze szczególnym uwzględnieniem zaburzeń wywołanych przez egzogeny 17 β -estradiol

Układ endokryny ryba, podobnie jak u innych kręgowców, stanowi skomplikowaną sieć zależności pomiędzy hormonami wytwarzanymi przez gruczoły dokrewne, takie jak podwzgórze, przysadka mózgowa, szyszynka, tarczyca czy gonady. Zadaniem układu endokrynnego jest regulowanie i koordynowanie funkcjonowania tkanek i narządów oraz utrzymanie homeostazy w organizmie, w celu zapewnienia prawidłowego przebiegu procesów życiowych, w tym procesów związanych z rozrodem. Jednymi z kluczowych hormonów, które zapewniają prawidłowy przebieg procesów rozrodczych ryb są: melatonina (Mel), tyroksyna (T_4), 17β -estradiol (E_2) oraz 11-ketotestosteron (11-KT). Melatonina, produkowana głównie przez szyszynkę, bierze udział w regulacji występowania tarła, a tym samym w regulacji procesów gametogenezy i steroidogenezy zachodzących w gonadach ryb. Działanie Mel odbywa się poprzez aktywację osi mózg–przysadka mózgowa–gonady. Hormon ten synchronizuje rytmy biologiczne z procesami fizjologicznymi oraz zmianami behawioru ryb. Ponadto Mel skutecznie chroni komórki przed stresem oksydacyjnym, który towarzyszy procesom dojrzewania i regresji gonad w cyklu rozrodczym ryb. Produkowana przez tarczycę tyroksyna wpływa z kolei na rozwój i dojrzewanie gonad, stymulując i utrzymując ich funkcje podczas cyklu rozrodczego ryb. U samic ryb hormon ten stymuluje rozwój oocytów prewitellogenicznych, oocytów we wczesnej witellogeniezie oraz pobudza syntezę witellogeniny w wątrobie, która gromadzona przez wzrastające oocyty indukuje ich ostateczne dojrzewanie i owulację. U samców ryb T_4 moduluje natomiast działanie wielu czynników istotnych dla utrzymania i prawidłowego przebiegu spermatogenezy i spermacji. 17β -estradiol jest głównym hormonem płciowym odpowiedzialnym za rozwój i regulację funkcjonowania układu rozrodczego oraz występowanie drugorzędowych cech płciowych u samic ryb. Jest on syntetyzowany w gonadach oraz mózgu i odgrywa ważną rolę w regulacji wzrostu oocytów, syntezy i wydzielaniu witellogeniny. Hormon ten jest syntetyzowany także przez komórki Leydiga i Sertoliego w jądrach samców ryb i ma wpływ na regulację spermatogenezy, zwłaszcza proliferację spermatogoniów. Z kolei 11-ketotestosteron, produkowany głównie przez gonady, jest głównym androgenem stymulującym spermatogenezę i regulującym wzrost i rozwój jąder, a także pojawianie się drugorzędowych cech płciowych oraz zachowań rozrodczych u większości samców ryb. U samic ryb funkcja 11-KT nie jest w pełni poznana, jednak wyniki dotychczasowych, nielicznych badań wykazały, że może mieć on wpływ na wzrost oocytów prewitellogenicznych.

Prawidłowe funkcjonowanie układu endokrynnego ryb może jednak zostać zaburzone przez różne związki chemiczne, które przedostają się do środowiska wraz ze ściekami komunalnymi, rolnymi, jak i przemysłowymi. Skutkować to może niekorzystnymi zmianami związanymi między innymi z behawiorem, rozrodem oraz rozwojem. Tego typu zaburzenia są wywoływane przez związki endokrynnie czynne, z ang. Endocrine Disrupting Compounds (EDCs), zdefiniowane jako egzogeny związek chemiczny lub mieszanina związków, które zaburzają funkcjonowanie układu hormonalnego, powodując niekorzystne skutki zarówno dla zdrowego organizmu, jego potomstwa, jak i populacji. Organizmy wodne mogą być narażone na działanie zarówno naturalnych, jak i syntetycznych EDCs. Wśród naturalnych EDCs znajdują się związki estrogenne, do których zaliczane są między innymi hormony steroidowe, takie jak: estron (E_1), 17β -estradiol (E_2), 17α -estradiol (17α - E_2) i estriol (E_3). Spośród tych związków największym potencjałem estrogennym charakteryzuje się E_2 . W środowisku wodnym hormon ten pochodzi głównie ze ścieków komunalnych oraz rolniczych. Związek ten okazał się jednym z głównych, które są odpowiedzialne za wysoki potencjał estrogeny wód pochodzących z oczyszczalni ścieków. Obecność E_2 w ściekach i wodach powierzchniowych oraz osadach morskich została odnotowana w wielu krajach, w stężeniach wahających się od kilku dziesiątych nanograma na litr do kilku tysięcy mikrogramów na litr. Najwyższe i ponadfizjologiczne stężenia E_2 odnotowano w strefach przybrzeżnych, narażonych na zrzuty ścieków z dużych aglomeracji miejskich i spływy z obszarów hodowli zwierząt. Pomimo dużego zainteresowania wpływem związków estrogennych na organizmy, niewiele jest badań dotyczących obecności E_2 w Morzu Bałtyckim, a dostępne dane, dotyczące głównie wód powierzchniowych, nie odzwierciedlają w pełni warunków panujących w pelagicznych czy też przydennych siedliskach ryb.

Dotychczasowe wyniki badań działania egzogenego E_2 na ryby wykazały, że może on powodować zmiany poziomu hormonów steroidowych w osoczu, zmniejszenie liczby składanej ikry, jak również obniżenie jej żywotności i wylężeń, a także zmniejszenie liczby i żywotności plemników, co może doprowadzić do obniżenia efektywności rozrodu, a w konsekwencji do zmniejszenia populacji ryb w danym akwenu. Co więcej, egzogeny E_2 może wywoływać zmiany w strukturze gonad, powodując pojawianie się osobników interseksualnych, co z kolei może doprowadzić do zaburzeń struktury płci w populacjach ryb. Osobniki interseksualne są

anomalią definiowaną jako występowanie osobników posiadających narządy rozrodcze zarówno z cechami żeńskimi, jak i męskimi w populacjach ryb gonochorystycznych (rozdzielnopłciowych). Egzogenny E₂ może także wpływać na osłabienie zachowań seksualnych i regresję cech płciowych u samców. Dawki E₂ użyte w przeprowadzonych dotychczas eksperymentach wahały się od kilku nanogramów do kilkuset mikrogramów na litr wody, a także od kilku do kilkuset miligramów w pokarmie na kilogram masy ciała. W środowisku naturalnym ryby są narażone na zmienne poziomy zanieczyszczeń, co z jednej strony spowodowane jest nieregularnym dopływem zanieczyszczeń, z drugiej zaś naturalnymi, dobowymi bądź sezonowymi migracjami, związanymi ze zmianami żerowisk lub rozrodem. Niestety, w większości eksperymentów wpływ egzogenego E₂ na ryby określano podczas krótko- i długotrwałych, ciągłych ekspozycji, podając hormon do wody lub z paszą, co w pełni nie odzwierciedlało warunków środowiskowych. Jednak wyniki nielicznych badań, które przeprowadzono przy zastosowaniu krótkotrwałej, nieciągłej (przerywanej) ekspozycji ryb na egzogenny E₂ pozwalają wnioskować, iż ekspozycja tego typu może powodować znacząco silniejszą odpowiedź układu endokrynnego ryb niż ekspozycja ciągła.

Jednym z gatunków ryb gonochorystycznych, który został uznany za szczególnie wrażliwy na działanie EDCs oraz posiadający większe, w porównaniu z innymi gatunkami ryb, predyspozycje do rozwoju osobników interseksualnych i feminizacji drugorzędnych cech płciowych jest babka bycza (*Neogobius melanostomus*). Gatunek ten prowadzi przydenny tryb życia, bytując przede wszystkim w wodach przybrzeżnych, gdzie preferuje rejony o twardym podłożu. Babka bycza, występująca naturalnie w rejonie ponto-kaspijskim, z powodzeniem skolonizowała Morze Bałtyckie. Pierwsze osobniki tego nierodzimego gatunku odnotowano w Zatoce Gdańskiej w 1990 r. Od tego czasu *N. melanostomus* stał się jednym z najliczniej występujących gatunków ryb w rejonach przybrzeżnych zachodniej części Zatoki Gdańskiej, zasiedlając także rejony wzdłuż całego wybrzeża polskiego, włącznie z rejonami przyujściowymi rzek, zalewami oraz przymorskimi jeziorami. Sukces ekspansji babki byczej w Morzu Bałtyckim wynika z jej dużej zdolności adaptacji do zmieniających się czynników środowiska, takich jak temperatura i zasolenie oraz ze zróżnicowanej diety. Jednak przede wszystkim sukces ten jest związany ze strategią rozrodczą, zapewniającą wysoką efektywność rozrodu, opartą na tarle porcyjnym (samice mogą składać ikrę kilkakrotnie w ciągu jednego okresu rozrodczego) oraz na opiece nad złożoną ikrą, sprawowanej przez samce.

Pomimo licznych badań związanych z biologią *N. melanostomus* oraz wykazaniem jej wrażliwości na EDCs, w literaturze brakuje informacji na temat regulacji hormonalnej cyklu rozrodczego u tego gatunku, jak i badań dotyczących zaburzeń w fizjologii rozrodu wywoływanych przez EDCs. Istniejąca literatura, dotycząca fizjologii rozrodu babki byczej, ogranicza się do kilku fragmentarycznych badań, koncentrujących się jedynie na hormonach steroidowych i histologii gonad pojedynczych osobników. Co więcej, dotychczas nie przeprowadzono u tego gatunku żadnych badań dotyczących stężeń innych hormonów, takich jak Mel i T₄, które obok hormonów steroidowych pełnią niezwykle ważną rolę w cyklu rozrodczym ryb. W literaturze brak jest również kompleksowych informacji dotyczących wpływu egzogennej E₂, jako naturalnego EDC, na fizjologię rozrodu *N. melanostomus*, jak i innych gatunków ryb. Ponadto pomimo liczego występowania w strefie przybrzeżnej Morza Bałtyckiego, gdzie notuje się wyższe stężenia różnego rodzaju zanieczyszczeń, nie stwierdzono dotąd osobników interseksualnych tego gatunku. W związku z powyższym w niniejszej pracy doktorskiej podjęto badania, których celem było uzupełnienie i poszerzenie wiedzy dotyczącej endokrynych aspektów fizjologii rozrodu dojrzałych osobników *N. melanostomus*, w tym zaburzeń, które mogą być efektem ekspozycji na estrogenne EDCs, ze szczególnym uwzględnieniem zaburzeń wywołanych przez egzogenne E₂. Aby osiągnąć ten cel wyznaczono następujące zadania badawcze: (1) określenie, czy osobniki interseksualne są obecne w populacji babki byczej z Zatoki Gdańskiej (**ARTYKUŁ I**), (2) określenie stężeń Mel i T₄ w osoczu, E₂ i 11-KT w osoczu i gonadach oraz stadium rozwoju gonad u obu płci babki byczej, w czterech fazach cyklu rozrodczego: przedtarłowej, tarłowej, późnego tarła oraz potarłowej (**ARTYKUŁ II**), (3) określenie wpływu krótkotrwałej, nieciągłej (przerywanej) ekspozycji na ponadfizjologiczną dawkę egzogennej E₂ na stężenia Mel i T₄ w osoczu, E₂ i 11-KT w osoczu i gonadach oraz na stadium rozwoju gonad u obu płci babki byczej, w czterech wyżej wymienionych fazach cyklu rozrodczego (**ARTYKUŁ III**). Do badań wybrano fazy rozrodcze, mając na względzie to, że przemiany, jakie się w tym czasie dokonują, wpływają istotnie na potencjał tarła i parametry populacji, a tym samym na wielkości ławic ryb, co może mieć istotne znaczenie zwłaszcza w przypadku gatunków wykorzystywanych w rybołówstwie i akwakulturze.

Obecność osobników interseksualnych w populacji *N. melanostomus* z Zatoki Gdańskiej określono w oparciu o analizy makroskopowe i histologiczne gonad,

przeprowadzone na materiale zebrany w 2007 roku (n=25) w rejonie portu Gdynia oraz w latach 2007–2012 (n=80) w rejonie portu Hel (**ARTYKUŁ I**). Badania mające na celu określenie stężeń Mel i T₄ w osoczu, E₂ i 11-KT w osoczu i gonadach oraz stadium rozwoju gonad u obu płci *N. melanostomus* w czterech fazach cyklu rozrodczego: przedtarłowej, tarłowej, późnego tarła oraz potarłowej, przeprowadzono na materiale pozyskanym w latach 2011–2014 (n=84) w rejonie portu Hel. Stężenia Mel, T₄ i E₂ oznaczono za pomocą testów radioimmunologicznych (RIA), natomiast 11-KT za pomocą testu immunoenzymatycznego (EIA). Stopień dojrzałości gonad określono na podstawie analizy histologicznej (**ARTYKUŁ II**). Z kolei w celu określenia wpływu egzogennej E₂ na stężenia wybranych hormonów oraz na stadium rozwoju gonad u obu płci *N. melanostomus*, w czterech wyżej wymienionych fazach cyklu rozrodczego, przeprowadzono eksperyment polegający na ekspozycji ryb na ponadfizjologiczne stężenie E₂ (200 µg/L; dawka nominalna E₂) poprzez zastosowanie krótkotrwałych i powtarzanych kąpiei. W każdej badanej fazie wyodrębniono cztery grupy ryb, trzy grupy kontrolne (stacjonarną, poddawaną kąpielom w wodzie morskiej oraz poddawaną kąpielom w wodzie morskiej z dodatkiem etanolu, który zastosowano jako rozpuszczalnik E₂) i jedną poddawaną ekspozycji na egzogenne E₂. Każda grupa składała się z 21 osobników (14 samców oraz 7 samic). Grupa stacjonarna nie była poddawana żadnym kąpielom (kontrolne wartości uzyskane w ramach **ARTYKUŁU II**). Pozostałe dwie grupy kontrolne oraz grupa eksponowana na E₂ były poddawane czterem seriom krótkotrwałych kąpiei w odstępach 5-dniowych podczas 27 dni eksperymentu. Każda seria składała się z 2-godzinnych kąpiei, powtarzanych przez trzy kolejne dni. W celu kontrolowania warunków eksperymentalnych parametry wody (temperatura, zasolenie, pH, nasycenie tlenem, stężenia azotanów, azotynów, fosforanów oraz amoniaku i jonów amonowych), jak i stężenie E₂ w wodzie mierzono na początku i na końcu każdej kąpiei. Metoda podawania E₂ (kąpiele wodne), ponadfizjologiczna dawka E₂ oraz harmonogram prowadzenia kąpiei zastosowane w niniejszym eksperymencie zostały wybrane w oparciu o opisane w literaturze wyniki wcześniejszych badań eksperymentalnych i środowiskowych. Badania przeprowadzono w latach 2011–2014 na materiale (n=336) pozyskanym w rejonie portu Hel. Stężenia Mel, T₄ i E₂ określono za pomocą testów RIA, natomiast 11-KT za pomocą testu EIA. Oprócz analiz wybranych hormonów, wykonano także badania histologiczne gonad oraz określono wskaźniki gonadosomatyczne (GSI) i hepatosomatyczne (HSI) (**ARTYKUŁ III**).

Wyniki przeprowadzonych badań wskazały na występowanie osobników interseksualnych w populacji *N. melanostomus* zamieszkującej Zatokę Gdańską. Zjawisko interseksualizmu zidentyfikowano u pojedynczych osobników, zarówno w rejonie portu Gdynia, jak i portu Hel, które w tych lokalizacjach stanowiły odpowiednio 5,9% i od 6,7 do 7,7% samców. W gonadach osobników interseksualnych złowionych w obu lokalizacjach w 2007 roku, w tkance kanalików nasiennych, stwierdzono obecność oocytów prewitellogenicznych. Z kolei wśród samców babki byczej złowionych w Helu, w latach 2011–2012, zaobserwowano osobniki interseksualne, w gonadach których zidentyfikowano oocyty w stadium zaawansowanej witellogenezy. Ponadto w 2011 roku, u jednego z osobników interseksualnych zaobserwowano feminizację drugorzędowych cech płciowych, tj. feminizację męskiego wyrostka urogenitalnego. Obecność osobników interseksualnych wykazujących zmiany w strukturze gonad, jak i feminizację drugorzędowych cech płciowych pozwala przypuszczać, że populacja babki byczej zamieszkująca wody przybrzeżne Zatoki Gdańskiej była narażona na działanie estrogennych EDCs. Zaobserwowane anomalie, jak i brak danych literaturowych na temat występowania osobników interseksualnych w populacjach innych gatunków ryb zamieszkujących polskie wody przybrzeżne wydają się potwierdzać wrażliwość *N. melanostomus* na zanieczyszczenia wywołujące zaburzenia endokryjne (ARTYKUŁ I).

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że we wszystkich badanych fazach, u obu płci babki byczej, stężenia Mel w osoczu nie różniły się statystycznie istotnie, z wyjątkiem fazy tarłowej, gdzie u samców zaobserwowano istotnie wyższe wartości. Mimo to, u obu płci najwyższe stężenia Mel w osoczu odnotowano w fazie tarłowej i potarłowej. Uważa się, że w fazie tarłowej Mel jest niezbędna do prawidłowego przebiegu procesów związanych z dojrzewaniem komórek rozrodczych, z kolei w fazie potarłowej jej wysoki poziom uaktywnia procesy prowadzące do regresji gonad. Wydaje się zatem, że Mel może odgrywać ważną rolę wyznaczając ramy czasowe tarła zarówno u samic, jak i u samców *N. melanostomus*. U obu płci babki byczej stężenia T_4 w osoczu nie różniły się istotnie we wszystkich badanych fazach cyklu rozrodczego, z wyjątkiem fazy potarłowej, gdzie zaobserwowano istotnie wyższe stężenie T_4 u samców. Stężenia E_2 w osoczu i gonadach samic były istotnie wyższe niż stężenia tego hormonu u samców we wszystkich badanych fazach. Co ciekawe, u obu płci zaobserwowano podobną tendencję zmian w stężeniach T_4 w osoczu i E_2 w osoczu i gonadach, wykazującą

wzrost w fazie przedtarłowej i potarłowej. Pozwala to przypuszczać, że hormony te mają kluczowy wpływ na gonady obu płci babki byczej podczas aktywnej fazy tarła, na etapie inicjującym tarło (stymulacja rozwoju gonad w fazie przedtarłowej). Z kolei wysokie stężenia tych hormonów w fazie potarłowej mogą być związane, między innymi, z nadal trwającą steroidogenezą w atretycznych oocytach witellogenicznych u samic, a u samców z hamowaniem procesów spermatogenezy. Najwyższe stężenia 11-KT zaobserwowano w osoczu i gonadach samców podczas tarła, co wydaje się wskazywać na istotne znaczenie tego hormonu w procesach aktywnej spermatogenezy. U samic z kolei nie stwierdzono istotnych zmian w stężeniach 11-KT w osoczu i gonadach podczas badanych faz rozrodczych. Najprawdopodobniej jest to związane ze stymulującą rolą 11-KT we wzroście oocytów prewitellogenicznych, obecnych w jajnikach w podobnych ilościach podczas wszystkich badanych faz rozrodczych. Stężenia 11-KT zarówno w osoczu, jak i gonadach samic były istotnie niższe niż u samców we wszystkich badanych fazach cyklu rozrodczego, co jest charakterystyczne dla większości gatunków ryb (**ARTYKUŁ II**).

Przeprowadzone badania wykazały, że naturalny profil zmian stężenia Mel w osoczu u obu płci babki byczej, z najwyższymi wartościami w fazie tarła i fazie portarłowej, nie uległ zmianie pod wpływem krótkotrwałej ekspozycji na ponadfizjologiczną dawkę E₂, co pozwala wnioskować, iż rola Mel w określaniu ram czasowych tarła jest stabilna. Należy zauważyć, że zaobserwowany, stabilny poziom Mel może chronić również przed poważnymi zmianami histopatologicznymi w gonadach, które mogłyby powstać w wyniku ekspozycji na E₂. Ekspozycja na E₂ spowodowała natomiast statystycznie istotny wzrost stężenia T₄ w osoczu u obu płci *N. melanostomus*, we wszystkich badanych fazach, z wyjątkiem fazy przedtarłowej. Estrogeny mogą wpływać na tarczycę bezpośrednio poprzez stymulację aktywności peroksydazy tarczycowej, wzrostu nabłonka tarczycy, zawartości tarczycowego RNA i poziomu T₄ lub pośrednio poprzez stymulację produkcji hormonu tyreotropowego (TSH) w przysadce mózgowej. Należy również wspomnieć, że E₂ może wykazywać działanie hamujące lub nie mieć żadnego wpływu na tarczycę u ryb. U samic babki byczej ekspozycja na E₂ spowodowała statystycznie istotny wzrost stężenia E₂ w osoczu i jajnikach, we wszystkich badanych fazach. Wiadomo, że egzogenny E₂ może wpływać na oś podwzgórze–przysadka–gonady (HPG) głównie poprzez działanie modulujące syntezę hormonów steroidowych lub poprzez działanie sprzężeń zwrotnych. Odwrotna

reakcja wystąpiła w przypadku 11-KT, gdzie egzogenny E_2 spowodował istotne obniżenie stężenia tego hormonu zarówno w osoczu, jak i jajnikach samic *N. melanostomus* we wszystkich badanych fazach cyklu rozrodczego. Niestety, w literaturze brak jest jakichkolwiek informacji na temat wpływu E_2 na stężenie 11-KT u samic ryb. Przeprowadzone badania są zatem pierwszymi na ten temat i pozwalają przypuszczać, że obniżenie stężenia 11-KT w gonadach jest wynikiem „regulacji w dół” (ang. down-regulation) ekspresji genów kodujących enzymy biorące udział w steroidogenezie. U samców babki byczej, podobnie jak u samic, ekspozycja na egzogenny E_2 statystycznie istotnie podwyższyła stężenie E_2 w osoczu podczas wszystkich badanych faz. Z kolei stymulujące działanie egzogenne E_2 na stężenie E_2 w gonadach samców babki byczej wykazano we wszystkich badanych fazach, z wyjątkiem fazy potarłowej. W tej fazie ekspozycja na E_2 spowodowała istotne obniżenie natywnego stężenia E_2 w jądrach. Ponadto, w odpowiedzi na egzogenny E_2 , we wszystkich badanych fazach zarówno w osoczu, jak i jądrach *N. melanostomus* zaobserwowano istotne obniżenie stężenia 11-KT. Możemy wyróżnić dwa mechanizmy potencjalnie zaangażowane w egzogenne działanie estrogenów u samców ryb. Po pierwsze, E_2 może indukować klasyczne biomarkery odpowiedzi na estrogeny, takie jak ekspresja receptorów estrogenowych 1 (ER1) w wątrobie i poziom witellogeniny w osoczu. Po drugie, E_2 może oddziaływać na oś HPG poprzez zmianę ekspresji enzymów biorących udział w steroidogenezie. Wydaje się jednak, że bezpośrednie działanie E_2 na jądra, niezależnie od gonadotropin, może mieć miejsce u samców babki byczej we wszystkich badanych fazach cyklu rozrodczego, z wyjątkiem fazy potarłowej. U obu płci *N. melanostomus* krótkotrwała ekspozycja na ponadfizjologiczną dawkę E_2 wywołała również zmiany w obrazie histologicznym gonad we wszystkich badanych fazach, z wyjątkiem fazy przedtarłowej, w której zarówno u eksponowanych samic, jak i u samców, nie stwierdzono wpływu egzogenne E_2 na rozwój gonad. Najprawdopodobniej w fazie przedtarłowej gonady nie są wrażliwe na dodatkową dawkę E_2 , ze względu na bardzo wysokie, endogenne stężenie E_2 w osoczu i gonadach. Możliwe jest również, iż zastosowany czas ekspozycji nie był wystarczająco długi do wywołania zmian histologicznych. U samic, w pozostałych fazach, egzogenny E_2 przyspieszył procesy rozwoju oocytów, owulacji i regresji. Z kolei u samców babki byczej ekspozycja na E_2 spowodowała hamowanie spermatogenezy i indukcję atrezji spermatogoniów. Najprawdopodobniej T_4 i hormony steroidowe, w odpowiedzi na egzogenny E_2 , wspólnie oddziałują na gonady babki byczej powodując

zaobserwowane, wyżej opisane zmiany. Wydaje się, że zmiany hormonalne wywołane przez E_2 , powodują większe zaburzenia procesów rozrodczych u samców niż u samic. U samców egzogenne E_2 może prowadzić do skrócenia tarła oraz zaburzeń płodności. Tymczasem u samic, zaobserwowane przyspieszenie rozwoju oocytów, owulacji jak i regresji gonad, może paradoksalnie prowadzić do zwiększenia ich potencjału reprodukcyjnego. Co ciekawe, we wszystkich badanych fazach, zarówno u samic, jak i u samców, nie zaobserwowano wpływu egzogenne E_2 na GSI i HSI, z wyjątkiem fazy potarłowej. W fazie tej, u obu płci odnotowano istotne obniżenie jedynie w wartościach GSI, najprawdopodobniej spowodowane postępującą regresją gonad (**ARTYKUŁ III**).

Niniejsza rozprawa dostarcza wielu nowych informacji na temat fizjologii rozrodu *N. melanostomus*, stanowiąc istotne uzupełnienie dotychczasowej wiedzy. Stwierdzenie obecności osobników interseksualnych w populacji babki byczej jest pierwszym tego typu, zarówno w odniesieniu do tego gatunku z Zatoki Gdańskiej, jak również z całego Morza Bałtyckiego. Po raz pierwszy również, w tak kompleksowy sposób, zbadana została regulacja hormonalna procesu rozrodu u tego gatunku, a uzyskane wyniki wykazały wysoką wrażliwość babki byczej na zaburzenia endokrynne, wywołane krótkotrwałą ekspozycją na E_2 . Ta cecha oraz fakt, iż jest to gatunek charakteryzujący się szerokim rozprzestrzenieniem oraz dużą liczebnością sprawia, iż *N. melanostomus* wydaje się być dobrym organizmem modelowym do badań zaburzeń endokrynnych wywołanych przez estrogenne EDCs, który może zostać wykorzystany w monitoringu zanieczyszczenia środowiska. Z drugiej strony, mając na uwadze fakt, iż jest to gatunek obcy, w wielu krajach na świecie uznawany za wysoce inwazyjny i wymagający szczególnej obserwacji i badań, uzyskane w niniejszej rozprawie wyniki mogą być także przydatne w opracowywaniu strategii postępowania z *N. melanostomus*. W kontekście gatunku obcego inwazyjnego, paradoksalnie, wszelkie zaburzenia prowadzące do obniżenia efektywności rozrodu, wydają się być korzystne, gdyż pomagają w jego eliminacji ze środowiska.