

Badania nad techniką pobierania i oceny nasienia pozyskanego od gołębi domowych

MAŁGORZATA KLIMOWICZ, ANDRZEJ DUBIEL

Katedra i Klinika Rozrodu, Chorób Przeżuwaczy i Ochrony Zdrowia Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

Klimowicz M., Dubiel A.

Studies on the technique of semen collection and evaluation in pigeons

Summary

The aim of the study was to devise a method of obtaining ejaculate from pigeons and semen evaluation. The study was carried out on 158 ejaculates collected from two groups of birds. The first group (A) consisted of 6 meat-breed pigeons and the second group (B) of 6 decorative pigeons. The birds were selected and kept in separate cages, with a natural photoperiod. A two-person technique was used for semen collection: lumbar-sacral region and cloacae region massage. Semen was obtained twice per week, in the afternoon. The colour, consistency and volume of undiluted ejaculates were estimated and, following their dilution with Ringer solution, sperm motility, semen concentration and total spermatozoa in the ejaculates were examined. A live-dead stain technique was used to determine the percent of live and normal sperm in particular samples.

The results of the study suggest that the massage method is effective for all breeds of pigeons and allows a quantitative and qualitative analysis of the traits of semen in pigeon breeder males. The males differed significantly in the volume of semen, sperm concentration, semen motility, total sperm per ejaculate and percent of live cells. The volume of ejaculates were small - an average of 0.029 ml in group A and 0.024 in group B, but sperm concentration was high - $1.496 \times 10^6/\text{mm}^3$ in group A and 1.934×10^6 in group B. In addition, the total sperm in ejaculates was high: 31.593×10^6 in group A, and 42.109×10^6 in group B respectively ($p < 0.05$). The percentage of live spermatozoa in group A was 76.60 and 78.71 ($p < 0.05$) in group B. Differences in the seminal characteristics between group A and B were statistically significant. No significant differences in the percentage of normal spermatozoa between groups were found. Pigeon semen is characterised by its very small volume and very high concentration of spermatozoa in ejaculates as well as the fact that it contains an extremely small percentage of abnormal spermatozoa.

Keywords: pigeon, semen, spermatozoa

Tematyka związana z pobieraniem nasienia od gołębi poruszana jest rzadko. Pierwsze wzmianki dotyczące prób pozyskania nasienia od gołębi pochodzą z lat 30. ubiegłego stulecia (cyt. 18). Badaniem właściwości ejakulatów gołębi zajmowali się Szumowski i wsp. (18), a także Ducci i wsp. (12). Vernon i wsp. (19) wykorzystywali nasienie różnych gatunków ptaków, m.in. gołębi, w celu zbadania właściwości ruchowych plemników. Jednakże brak jest dotychczas w dostępnym piśmiennictwie bardziej wyczerpujących opracowań dotyczących nasienia tego gatunku ptaków. Poznanie właściwości ejakulatów gołębi, a następnie opracowanie i zastosowanie nowych technik biotechnologicznych w rozrodzie tych ptaków może w istotny sposób wpłynąć na zmianę frekwencji genów i genotypów w stadzie (tzw. funduszy genowego stada), bez konieczności wprowadzania nowych zwierząt. Wiąże się to z udoskonaleniem stada pod względem czystości rasy lub nawet wyhodowania nowej rasy

gołębi (17). Należy nadmienić, że gołębie są zwierzętami monogamicznymi, a wprowadzenie sztucznej inseminacji pozwoliłoby na uzyskanie większej liczby potomstwa w sezonie niż przy naturalnym unasiennianiu. Natomiast zastosowanie konserwacji nasienia pozwoli zebrać i zmagazynować geny wybitnych samców pod względem eksterieru, jak w przypadku gołębi ozdobnych, oraz dobowych przyrostów i umięśnienia ptaków w typie mięsny czy też wysokiej dzielności lotowej ptactwa w typie sportowym.

Wychodząc naprzeciw narastającym oczekiwaniom hodowców odnośnie do zastosowania nowych i skutecznych technik w rozrodzie ptaków ozdobnych, w tym gołębi, przeprowadzono badania nad opracowaniem techniki sprawnego pobierania ejakulatów i określeniem właściwości nasienia gołębi. Badania przeprowadzono z myślą wykorzystania pozyskanej wiedzy w celu wypracowania metody sztucznej inseminacji i konserwacji nasienia tych ptaków.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na ejakulatach pozyskanych od 12 rasowych gołębi (*Columba livia*) w wieku 1-2 lat. Ptaki podzielono na 2 grupy według rasy i typu, jakie reprezentowały. Grupę A stanowiło 6 samców w typie mięsnym, rasy ryś polski, grupę B – 6 samców gołębi ozdobnych – pawik. Wszystkie ptaki zostały odseparowane od samic na 3 tygodnie przed planowanym rozpoczęciem doświadczenia. Gołębie trzymano w systemie chowu klatkowego, indywidualnie ze stałym dostępem do wody oraz paszy, którą stanowiła mieszanka o następującym składzie: pszenica 30-40%, jęczmień 20-25%, kukurydza 20-30%, rzepak maksymalnie 5%, oraz dodatki mineralno-witaminowe dla gołębi w dawce zalecanej przez producenta preparatu. Karmę odstawiano na około 20 godzin przed planowanym zabiegiem, aby zapobiec zanieczyszczeniu nasienia kałomoczem. Zastosowano program świetlny odpowiadający naturalnej długości dnia.

W trakcie doświadczenia trwającego 12 tygodni, od kwietnia do czerwca łącznie przebadano 168 ejakulatów. Nasienie pobierano regularnie dwukrotnie w ciągu tygodnia (wtorek i czwartek), w godzinach popołudniowych od 15⁰⁰-17⁰⁰. Stosowano zmodyfikowaną technikę opisaną przez Szumowskiego i wsp. (18), polegającą na masażu grzbietu w okolicy lędźwiowo-krzyżowej z równoczesnym rytmicznym uciskaniem okolic kloaki. Nasienie pobierano do dwóch rodzajów kalibrowanych zbiorniczków. Pierwszym był zmodyfikowany zbiorniczek na nasienie pozyskiwane od przepiórek, z gumowym wężykiem zakończonym ustnikiem do aspiracji nasienia do zbiorniczka. Drugi rodzaj to kalibrowane próbki o pojemności 0,6 ml. Zbiorniczki przed użyciem ogrzewano w cieplarni do temperatury 37°C. Nasienie pobierano w pomieszczeniu laboratoryjnym, w temperaturze 20-25°C.

Pozyskane ejakulatory poddawano wstępnym badaniom makro- i mikroskopowym oraz przygotowywano materiał do badań uzupełniających, tj. koncentracji plemników w jednostce objętości, ogólnej (całkowitej) liczby plemników w ejakulacie, odsetka plemników żywych oraz morfologii. Ze względu na bardzo małe objętości nasienia, natychmiast po ocenie makroskopowej, rozrzedzano je płynem Ringera ogrzany do temperatury 37°C, o objętości 0,2 ml. Po rozrzedzeniu badano ruch plemników w 5 polach widzenia, pod powiększeniem 125- i 400-krotnym. Koncentrację plemników w jednostce objętości obliczono w komorze cytometrycznej Thoma. Oceny odsetka plemników żywych i budowy morfologicznej dokonywano przy zastosowaniu barwienia nigrozynowo-eozynowego (10). Barwnik przygotowywano według receptury Jaśkowskiego (13), stosując 8% nigrozynę i 4% eozynę w stosunku 3 : 1. Tak przygotowany barwnik, ogrzany do temperatury 37°C, łączono z rozrzedzonym nasieniem (1 kropla nasienia i 3 krople barwnika), po 30 sek. mieszania w temperaturze 37°C wykonywano rozmaz na szkiełku podstawowym i pozostawiano go do wyschnięcia w strumieniu ciepłego powietrza. Do oceny preparatów przystępowano po 24 godzinach, w oparciu o następującą klasyfikację, zaproponowaną przez Łukaszewicz (15): rozszerzone (rozdęte) główki, załamane wstawki, plemniki spiralnie skręcone, zmiany we wstawce, spermatyda i inne formy, wyżej nie wy-

mienione. Dodatkowo uwzględniono zmiany w obrębie akrosomu. Morfologie plemników oceniano, badając 300 plemników (100%).

Obliczenia statystyczne wykonano przy zastosowaniu testu t-Studenta.

Wyniki i omówienie

W ramach przeprowadzonego eksperymentu pobrano nasienie od 9 spośród 12 gołębi. Bardziej podatne na masaż były ptaki z grupy B, wśród których zaledwie 1 samiec nie zareagował na stymulację, natomiast od pozostałych 5 osobników nasienie pozyskiwano regularnie. Natomiast w grupie A dwa samce nie odpowiedziały na masaż przez cały czas trwania eksperymentu. W grupie B pierwsze ejakulatory pozyskano już w 1-2 próbie, podczas gdy ptaki z grupy A wymagały 14-19-dniowego okresu przyuczania do oddawania nasienia. Nierzadko niezbędne okazywało się wielokrotne stymulowanie samców w celu erotyzacji i pozyskania nasienia. Zestawienie liczby podjętych prób pobierania nasienia do liczby oddanych ejakulatów w poszczególnych grupach oraz odsetek pomyślnie przeprowadzonych prób zakończonych pozyskaniem ejakulatu przedstawia tab. 1. W zestawieniu tym ujęto także samce, które w trakcie przeprowadzonego doświadczenia nie oddawały nasienia.

Zbadano łącznie 158 ejakulatów. W grupie A ejakulatory najczęściej miały barwę białą do białokremowej, w grupie B natomiast od białokremowej do kremowej. Podobnie konsystencja w grupie A (gołębie mięsne) była rzadsza (konsystencja mleka lub mleczno-śmietanowa) niż w przypadku grupy B (gołębie ozdobne), gdzie przeważała konsystencja mleczno-śmietanowa i śmietany. Objętość ejakulatów, ruchliwość, koncentrację, ogólną liczbę plemników w ejakulacie oraz odsetek plemników żywych i ich morfologię z uwzględnieniem różnic w poszczególnych grupach ilustrują tab. 2 i 3.

Piśmiennictwo podaje wiele metod pozyskiwania nasienia od drobiu, zarówno grzebiącego, jak i wodnego. Jednym z pierwszych badaczy był Ivanov, który odzyskiwał nasienie pośmiertnie poprzez wyciskanie zawartości nasieniowodów, Craft i wsp. opracowali metodę wyłóżczkowania ejakulatu ze steku samicy tuż po pokryciu, natomiast Jull i wsp. aspirowali ejakulat z kloaki samicy (cyt. 8). Ishikawa opracował natomiast pierwszą sztuczną kloakę dla ptactwa (cyt. 8). Przełomowe okazały się prace Burrowsa i Quinna (7), którzy opisali metodę pozyskiwania nasienia manualnym stymulowaniem odruchu ejakulacji. Metoda ta polegała na masażu tkanek miękkich brzucha za obręczą miedniczną. Bonadonna (cyt. 18) był pierwszym, który opracował technikę pobierania nasienia od gołębi poprzez ucisk na przewody opuszkowe zlokalizowane w steku. Szumowski i wsp. (18) opracowali metodę polegającą na masażu grzbietu w okolicy lędźwiowo-krzyżowej z jednoczesnym intensywnym, aczkolwiek delikatnym uciskiem na klo-

akę. Metodę tę, w modyfikacji autorów, zastosowano w niniejszym doświadczeniu. W ramach przeprowadzonego eksperymentu wykazano przydatność wyżej wymienionej techniki do pobierania nasienia od gołębi. Metoda ta pozwala na sprawne uzyskanie nasienia o pożądanym cechach. Zastosowanie reżimu dietetycznego oraz regularność przeprowadzania daje szansę uniknięcia kontaminacji ejakulatu kałomoczem. Obecność zanieczyszczeń pochodzących z przewodu pokarmowego i narządu moczowego wpływa bowiem szkodliwie na ruchliwość i żywotność plemników, co wykazali Boone i wsp. (6).

Przez cały czas trwania doświadczenia nasienie pobierane było przez tę samą osobę. Poznanie reaktywności poszczególnych samców pozwalało na indywidualne dostosowanie intensywności i długości masażu, tak aby nie zniechęcić ptaków do oddawania nasienia, a także aby nie doprowadzić do uszkodzeń kloaki (4). Cecil i Bakst (9) wykazały, że wielkość i jakość ejakulatów zależy również od operatora, gdyż to on decyduje o technice i długości stymulacji samca, stosownie do jego pobudliwości.

Należy zauważyć, że gołębie rasy mięsnej (grupa A) wolniej przyuczały się do oddawania nasienia, były mniej podatne na masaż, a także oddawały nasienie nieregularnie. W tej grupie doświadczalnej 66,7% samców oddawało nasienie, natomiast w przypadku pozostałych dwóch osobników tylko jeden odpowiadał nieznaczną erotyzacją. Zjawisko to można tłumaczyć ewentualną niepłodnością samców, były to bowiem

Tab. 1. Efektywność pobierania nasienia gołębi (n = 6)

Grupa	Liczba podjętych prób pozyskania ejakulatu	Liczba pozyskanych ejakulatów	Odsetek prób udanych %
A	104	62	59,61
B	104	87	83,65

ptaki, których płodność przed doświadczeniem nie była potwier-

dzona. Nasienie gołębi w grupie A charakteryzowało się istotnie większą objętością ejakulatu niż nasienie pozyskane od grupy B. Ponadto nasienie ptaków grupy A cechowało się istotnie mniejszą koncentracją i ogólną liczbą plemników w ejakulacie niż nasienie pozyskane od grupy B. Ejakulatory pozyskane od ptaków z grupy A charakteryzowały się istotnie mniejszym odsetkiem plemników żywych, jak również większą liczbą plemników z rozszerzoną główką, załamana wstawką lub wykazujących inne wady niż wyszczególnione w zastosowanej klasyfikacji. Jednakże ze względu na małą liczbę samców grupy A wykorzystanych w doświadczeniu trudno jest postawić jednoznaczne wnioski i odnieść je bezpośrednio do całej populacji ptaków tej rasy.

W przypadku oceny morfologii zastosowano klasyfikację wad opierając się na badaniach Łukaszewicz (15), która zaproponowała prosty i przejrzysty podział nieprawidłowości budowy plemnika ptasiego. Podział ten dodatkowo poszerzono o zmiany dotyczące akrosomu. Bajpai (2) zaproponował rozbudowany i szczegółowy system klasyfikacji plemników, który opierał się na dokładnym analizowaniu zmian w budowie poszczególnych odcinków gamety (wady główki, wstawki i wtki). Jednakże ze względu na rzadkie występowanie niektórych przez niego opisanych wad, wydaje się zasadne klasyfikowanie ich do grupy „inne wady”. Inni badacze (1, 20) morfologię plemnika oceniali bardzo ogólnikowo, dzieląc je na komórki o prawidłowej i nieprawidłowej budowie. Natomiast Clarke i wsp. (11) uwzględniali tylko uszkodzenia akrosomu oraz mitochondriów.

W trakcie niniejszych badań, analizując wady i uszkodzenia gamet zauważono, że najliczniej reprezentowane są plemniki z anomalią główki w postaci lokalnych rozdęć lub powiększenia tej części komórki. Rzadziej spotykanymi wadami były uszkodzenia i zmiany w obrębie akrosomu czy wstawki. Obser-

Tab. 2. Wyniki oceny jakości nasienia gołębi (n = 6; $\bar{x} \pm s$)

Grupa	Barwa nasienia	Konsystencja nasienia	Objętość ejakulatu ml	Ruchliwość plemników %	Koncentracja plemników $\times 10^6/\text{mm}^3$	Ogólna liczba plemników $\times 10^6$
A	biała lub białokremowa	mleka lub mleczno-śmietanowata	0,029 ^{**} ± 0,007	62,1 ^{**} ± 14,7	1,496 ^{**} ± 0,464	31,593 [*] ± 17,599
B	białokremowa, kremowa	mleczno-śmietanowata, śmietany	0,024 ± 0,006	70,5 ± 13,1	1,934 ± 0,635	42,109 ± 23,078

Objaśnienia: * różnica istotna statystycznie przy $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

Tab. 3. Wybrane właściwości mikroskopowe nasienia gołębi (%), (n = 6; $\bar{x} \pm s$)

Grupa	Plemniki żywe	Plemniki prawidłowe	Plemniki zmienione morfologicznie					spermatyda	inne wady
			rozszerzone główki	zmienione akrosomy	zakrzywione plemniki	zmiany we wstawce			
A	76,60 [*] ± 8,13	73,67 ± 5,93	17,41 ^{**} ± 8,26	4,31 ± 2,19	3,72 [*] ± 2,17	1,82 ± 1,10	1,63 ± 1,21	5,88 [*] ± 3,35	
B	78,71 ± 6,52	73,97 ± 6,72	13,60 ± 6,31	4,30 ± 2,54	2,79 ± 1,79	1,76 ± 1,06	1,55 ± 0,79	4,59 ± 3,54	

Objaśnienia: jak w tab. 2

wowano także wzrost komórek powiększonych i zniekształconych, gdy do wybarwienia tła użyto nigrozyny (cyt. 5). Wydaje się więc prawdopodobne, że w tym przypadku zastosowanie nigrozyny przyczyniło się do tak częstego pojawiania się wad główki. Szumowski i wsp. (18), zastosowali również podobne barwienie, lecz zanotowali znacznie mniejszy odsetek wad, jednak autorzy ci nie po-

dali informacji o stężeniu użytych barwników, w tym nigrozyny. Ducci i wsp. (12) stwierdzili, iż ponad 90% badanych plemników wykazuje prawidłową budowę morfologiczną. Należy jednak nadmienić, że badacze ci stosowali odmienną metodę postępowania z nasieniem, począwszy od pozyskania przez rozrzedzenie do barwienia i oceny morfologii. Dlatego też niemożliwe jest zaprezentowanie jednoznacznego modelu właściwości ejakulatów gołębi. Cechy te ulegają zmianom w zależności od warunków przeprowadzenia eksperymentu, wykorzystanych metod i technik. Dobór zwierząt do doświadczenia nie jest również obojętny wobec wyników badań, co ukazuje poniższy eksperyment.

Oceniając ejakulatory pozyskane w toku niniejszego eksperymentu wykazano nieznacznie zwiększoną liczbę plemników wadliwych u gołębi mięsnych. W grupie tej zanotowano istotnie więcej plemników z rozszerzoną główką oraz komórek załamanych w porównaniu z grupą ptaków ozdobnych. Podobnie ejakulatory pozyskane od kogutów ras ciężkich cechowały się wyższym odsetkiem gamet o nieprawidłowej budowie, w szczególności dotyczyło to częstszego występowania plemników zakrzywionych oraz uszkodzonych na wysokości wstawki (5, 16). Należy pamiętać, że wstawki, witki i akrosomy odgrywają istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu plemników, decydują o jego ruchliwości oraz zdolności do penetracji osłonki przejrzystej (14). Jednakże pojawienie się w nasieniu gamet uszkodzonych lub zdeformowanych niekoniecznie jest efektem nieprawidłowości w przebiegu spermatogenezy lub transporcie w drogach wyprowadzających nasienie. Clarke i wsp. (11) podają, że zmiany w ciśnieniu osmotycznym środowiska plemników walnie przyczyniają się do występowania uszkodzeń komórek rozrodczych. Nawet niewielkie zmiany osmolalności medium, w którym zawieszono plemniki, mogą doprowadzić do wzrostu odsetka nieprawidłowych komórek. Ponadto zauważono, że temperatura towarzysząca pobieraniu i badaniu nasienia wpływa na kształt i budowę ocenianych komórek (3, 10). Badacze ci, pracując z nasieniem kogutów i indyków, obserwowali znaczny wzrost liczby plemników zakrzywionych, gdy temperatura spadała poniżej 15°C. W przypadku, gdy wszelkie manipulacje z nasieniem odbywały się w temperaturze 41°C, następował wzrost odsetka plemników z uszkodzoną witką. Ponadto zauważono, że nasienie pozyskane od kogutów cechuje się większą liczbą plemników nieprawidłowych niż nasienie indyków, pobierane w tych samych warunkach środowiskowych.

Clarke i wsp. (11) sugerują, że płodność nie zależy od liczby plemników z defektami morfologicznymi, jeśli nie przekracza ona 20% całej populacji gamet w nasieniu kogutów czy indyków. Z niniejszych badań wynika, że nasienie gołębi ma stosunkowo większy odsetek plemników wadliwych od wymienionych gatunków drobiu. Potwierdzają to badania Szumowskiego i wsp. (18). Wykazali oni, że w nasieniu gołębi

średnio 8% populacji komórek ma nieprawidłową budowę morfologiczną. W przypadku, gdy w ejakulatach odsetek plemników o niepożądanym morfologii przekracza 20%, należy zwiększyć dawkę inseminacyjną, aby zmniejszyć niekorzystny wpływ gamet wadliwych na wyniki unasienniania (11).

Przeprowadzone badania pozwoliły na opracowanie modyfikacji pobierania ejakulatów oraz oceny niektórych właściwości nasienia gołębi (tab. 2 i 3). Zarówno opisana technika uzyskiwania nasienia różnych gatunków ptaków, jak i metody jego oceny, okazały się przydatne w odniesieniu do gołębi. Analizując wyniki badań własnych i danych piśmiennictwa można wnioskować, że nasienie gołębi cechuje się wybitnie małą objętością, wysoką koncentracją plemników w jednostce objętości i niskim odsetkiem plemników zmienionych morfologicznie. Uzyskane wyniki pozwolą w przyszłości na podjęcie badań nad metodami konserwacji nasienia i sztuczną inseminacją gołębi.

Piśmiennictwo

1. *Ansah G. A., Segura J. C., Buckland R. B.*: Semen production, sperm quality, and their heritabilities as influenced by selection for fertility of frozen-thawed semen in the chicken. *Poultry Sci.* 1985, 64, 1801-1803.
2. *Bajpai P. K.*: The effect of photoperiodicity on semen characteristics of poultry. *Poultry Sci.* 1963, 42, 462-465.
3. *Bajpai P. K., Brown K. J.*: The effect of different temperatures on the metabolic activity, morphology and fertilizing capacity turkey semen. *Poultry Sci.* 1964, 43, 1501-1508.
4. *Bakst M. R., Cecil H. C.*: Gross appearance of turkey cloacae before and after single or multiple manual semen collections. *Poultry Sci.* 1983, 62, 683-689.
5. *Bilgili S. F., Renden J. A., Sexton K. J.*: The influence of staining techniques and examiners on evaluation of the morphology of fowl spermatozoa. *Poultry Sci.* 1985, 64, 2358-2361.
6. *Boone M. A., Hughes B. L.*: Contamination of semen and its effect on avian semen fertility. *Poultry Sci.* 1970, 49, 402-405.
7. *Burrows W. H., Quinn J. P.*: A method of obtaining spermatozoa from the domestic fowl. *Poultry Sci.* 1935, 14, 251-254.
8. *Burrows W. H., Quinn J. P.*: The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Sci.* 1937, 16, 19-24.
9. *Cecil H. C., Bakst M. R.*: Volume, sperm concentration and fertilizing capacity of turkey ejaculates obtained from successive cloacal strokes during semen collection. *Poultry Sci.* 1985, 64, 1219-1222.
10. *Chalah T., Brillard J. P.*: Comparison of assessment of fowl sperm viability by eosin-nigrosin and dual fluorescence (SYBR-4/PI). *Theriogenology* 1998, 50, 487-493.
11. *Clarke R. N., Bakst M. R., Ottinger M. A.*: Morphological changes in chicken and turkey spermatozoa incubated under various conditions. *Poultry Sci.* 1984, 63, 801-805.
12. *Ducci M., Gazzano A., Villani Ch., Tedeschi D., Sighieri C., Frateschi T. L.*: Pigeon (*Columba livia*) semen examination. *Ann. Fac. Med. Vet. Pisa.* 1998, LI, 221-227.
13. *Jaśkowski L.*: Przyżyciowe barwienie nasienia buhaja w celu różnicowania plemników na żywe i martwe. *Medycyna Wet.* 1953, 9, 340-341.
14. *Lake P. E.*: A cytochemical examination of the spermatozoon of the domestic fowl. *Res. Vet. Sci.* 1966, 7, 121-127.
15. *Lukaszewicz E.*: Effects of semen filtration and dilution rate on morphology and fertility of frozen gander spermatozoa. *Theriogenology* 2001, 55, 1819-1829.
16. *Marini P. J., Goodman B. L.*: Semen characteristics as influenced by selection for divergent growth rate in chickens. *Poultry Sci.* 1969, 48, 859-865.
17. *Nowicki B., Pawlina E., Dubiel A.*: Gołębie chów, hodowla, rasy. PWRiL Warszawa 1996.
18. *Szumowski P., Theret M., Denis B.*: Semen and artificial insemination of pigeons. 8th Inter. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem, Poland, Kraków 1976, s. 1086-1089.
19. *Vernon G. G., Woolley D. M.*: Three-dimensional motion of avian spermatozoa. *Cell Motil. Cytoskeleton* 1999, 42, 149-161.
20. *Woodard A. E., Ogasawara R. L., Snyder R. L., Stinnett V.*: Effect of forced molting on quantity and quality of semen in turkey breeder males as influenced by diet. *Poultry Sci.* 1975, 54, 2094-2101.