

# Stężenie estronu w surowicy młodych samców żubra

ELŻBIETA CZYKIER, KATARZYNA GÓRAL\*, WANDA OLECH\*

Zakład Histologii i Embriologii UM, ul. Waszyngtona 13, 15-269 Białystok

\*Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW, ul. Ciszewskiego 9, 02-786 Warszawa

Czykier E., Góral K., Olech W.

## Serum concentration of estrone in young European bison males

### Summary

The aim of the present study was: (1) to estimate the dynamics of estrone (E1) concentrations in the blood serum of the European bison *Bison bonasus* (L.) with and without spermiogenesis; (2) to compare the body mass and testis mass between animals with and without spermiogenesis; (3) and to investigate if there is a correlation between estrone levels in the blood serum of animals and their age, body mass and testis mass. The animals were culled during the autumn-winter seasons in 1995-2008 (after the rutting period) in the Białowieża Primeval Forest. The animals were divided into 2 age groups: young males up to 2-years-of-age and young males up to 3-years-of-age, with further separation into individuals with or without spermiogenesis. Research was performed on sections of testes and epididymes collected from 37 male bison. Blood serum collected from 37 European bison specimens. Levels of E1 in the blood serum were determined by the ELISA No KAPD4174 method of BIOSOURCE (Belgium). Moreover, there was no significant difference between mean values of E1 in serum of young male European bison up to 2 and 3-years-of-age with or without spermiogenesis. Young males up to 2-years-of-age with spermiogenesis were characterized by a significantly higher body mass and testis mass than the animals without spermiogenesis. There was no significant differences in the body mass and testis mass among older animals, up to 3-years-of-age, with or without spermiogenesis.

**Keywords:** *Bison bonasus*, males, estrone, spermiogenesis

Ocena histologiczna preparatów mikroskopowych z jąder i najądrzy samców żubrów *Bison bonasus* (L.) eliminowanych w latach 1969-1993 wykazała, że zwierzęta te rozpoczynają spermatogenezę w wieku 4 lat (10). Kontynuowanie tych badań pozwoliło na stwierdzenie, że pojedyncze osobniki mają spermiogenezę w wieku 15 czy 18 miesięcy (8). Badania prowadzone z użyciem mikroskopu elektronowego również potwierdziły obecność plemników w kanalikach krętych jąder 1,5 rocznego samca żubra (1). Podobne wyniki uzyskali inni badacze zarówno na podstawie obserwacji terenowej samców, jak i analizy danych rodowodowych z Księgi Rodowodowej Żubrów, które wykazały, że samce w wieku 15-20 miesięcy skutecznie kryły żubrzyce w warunkach hodowli zamkniętej (19, 28, 38). Niemniej przypadki spermiogenezy u młodych samców żubrów traktowano jako zjawisko odosobnione, dotyczące tylko pojedynczych osobników. Weryfikację tych poglądów przyniosły ostatnie badania, które wykazały, że wśród zwierząt 3-letnich spermiogenezę obserwowano u ponad połowy badanej grupy (53,3%) (6). Natomiast w wieku 2 lat spermiogeneza rzeczywiście jest zjawiskiem rzadkim, sięga 16,7% przypadków wśród młodych samców (6).

Badania prowadzone w drugiej połowie lat dziewięćdziesiątych minionego stulecia wykazały, że estrogeny biorą udział w regulacji spermatogenezy, poza tym odpowiadają za ekspresję zachowań seksualnych, wpływają na dymorfizm zachowań seksualnych samców i samic. U niedojrzałych płciowo samców głównym miejscem powstawania estrogenów są komórki Sertoliego, zaś u dojrzałych płciowo zwierząt komórki Sertoliego, komórki Leydiga oraz komórki plemnikotwórcze (29), przy czym do estrogenów należą estron (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2) i estriol (E3). Głównym estrogenem jest estron powstający z androstendionu pod wpływem aromatazy, natomiast najaktywniejszym jest 17 $\beta$ -estradiol (20).

W dostępnym piśmiennictwie obecne są jedynie informacje dotyczące poziomów E2 w surowicy samców żubrów. W swojej monografii Gill (14) porównuje stężenia E2 w surowicy młodych byczków i dorosłych samców żubra. Natomiast Czykier (5) porównuje stężenia E2 w surowicy młodych samców żubra będących w wieku 2 i 3 lat. Inni autorzy prowadzili badania dotyczące oceny stężeń estrogenów w surowicy głównie u koni (13, 17, 18, 24, 31-33) oraz u innych gatunków zwierząt należących do kopytnych

– jelenia wirginijskiego (*Odocoileus virginianus*) (2) i bydła domowego (11, 35). Dotychczas nie prowadzono żadnych badań dotyczących poziomu E1 (będącego głównym estrogenem) w surowicy samców żubra. Wcześniejsze publikacje dotyczące spermiogenezy u młodych żubrów w wieku 2 i 3 lat opisywały poziom całkowitego testosteronu (TT), wolnego testosteronu (FT) oraz E2 (5, 7). Opis stężeń E1 w surowicy tych zwierząt stanowi cenne uzupełnienie dotychczasowych badań.

Celem badań było porównanie: a) stężeń (E1) w surowicy młodych samców w wieku 2 i 3 lat ze spermiogenezą w stosunku do młodych samców w tym samym wieku, b) masy ciała tych zwierząt oraz c) masy jąder lewego i prawego. Ponadto określono korelację pomiędzy następującymi parami cech: poziomem estronu a wiekiem badanych zwierząt, masą ciała, masą jądra prawego i masą jądra lewego.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na surowicy 37 żubrów, pobranej od zwierząt odstrzelonych w sezonie jesienno-zimowym (po zakończeniu okresu rujowego) w latach 1995-2008 na terenie Puszczy Białowieskiej (12), pochodzących z hodowli zamkniętej (n = 8) i stada wolno żyjącego (n = 29). Eliminacje były dokonywane w celu redukcji liczebności populacji. Przyczyny wyboru konkretnych osobników do eliminacji były różne, np. choroby, ze szczególnym uwzględnieniem nekrotycznego zapalenia napletka samców (NZN), zła kondycja, wady eksterierowe, urazy różnego pochodzenia, agresja w stosunku do człowieka czy starość (21, 22, 30). Wiek żubrów pochodzących z wolno żyjącej populacji był określany przez Z. A. Krasńskiego i J. Dackiewicza z Białowieskiego Parku Narodowego (BPN) na podstawie wyrzynania się zębów mlecznych i wymiany zębów mlecznych na stałe oraz wielkości i kształtu rogów (23, 37). Wiek zwierząt z hodowli zamkniętej określano w oparciu o dane pochodzące z Księgi Rodowodowej Żubrów. Odstrzały żubrów przeprowadzano w godzinach przedpołudniowych. Dane dotyczące masy ciała żubrów (n = 37) uzyskano z BPN. Dokonano pomiaru masy jądra lewego (n = 26) i masy jądra prawego (n = 26). Pobierano wycinek z lewego i prawego jądra oraz fragment trzonu lewego i prawego najądrza. Materiał utrwalano w płynie Bouina, prowadzono techniką parafinową, barwiono H+E. Pobierano pełną krew z tętnicy udowej zwierząt (*post mortem*), a następnie odwirowywano w Zakładzie Badania Ssaków Polskiej Akademii Nauk w Białowieży. Próbkę surowicy mrożono i przechowywano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Stężenie estronu oznaczono w surowicy 37 samców żubrów metodą immunoenzymatyczną (ELISA) charakteryzującą się czułością  $6,3\text{ pg/ml}$  (No KAPD4174) firmy BIOSOURCE (Belgia). Pomiaru stężeń E1 w surowicy samców żubrów wykonano w Laboratorium Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku.

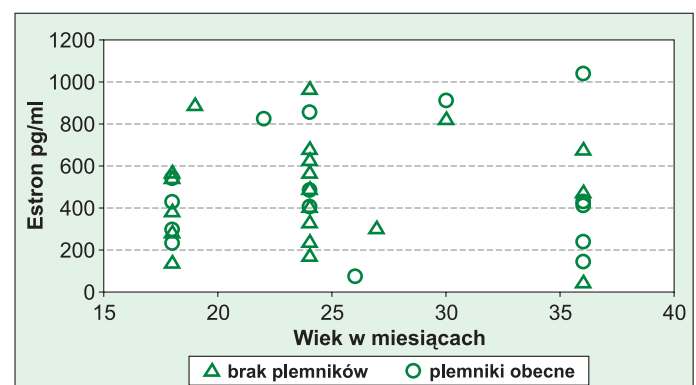
Zwierzęta podzielono na następujące klasy wiekowe: klasa I – osobniki w wieku do 2 lat, klasa II – młode samce w wieku do 3 lat. Jako kryterium obecności spermiogenezy

przyjęto występowanie plemników w kanalikach krętych jąder i/lub obecność plemników w przewodzie najądrza w preparatach mikroskopowych. W I klasie wiekowej 14 osobników miało nekrotyczne zapalenie napletka, 10 osobników miało torbiele najądrza (26, 27, 34). W II klasie wiekowej 6 osobników miało nekrotyczne zapalenie napletka, torbiele najądrzy obserwowano u 7 sztuk (26, 27, 34).

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono w oparciu o pakiet statystyczny SPSS 17.0. Najpierw sprawdzono, przy wykorzystaniu jednoczynnikowej analizy wariancji, czy zaobserwowana spermiogeneza (obecność plemników lub ich brak) ma wpływ na poziom estronu, wielkość masy ciała, wielkość masy jądra lewego oraz wielkość masy jądra prawego. Osobno rozpatrzono grupę zwierząt dwuletnich, a osobno trzyletnich. W kolejnej części analiz, dla obu grup łącznie, wykorzystując dwuczynnikową analizę wariancji, sprawdzono, czy grupa wiekowa (wiek w latach: do 2 lub do 3) oraz zaobserwowana spermiogeneza mają wpływ na poziom estronu. W tym modelu uwzględniono także interakcję obu czynników.

### Wyniki i omówienie

**Żubry w wieku 2 lat.** W I klasie wiekowej (n = 25) u 7 młodych samców żubra obserwowano spermiogenezę (28%), przy czym 3 zwierzęta pochodziły z rezerwatu, a 4 osobniki były ze stada wolnego. U tych 7 zwierząt stwierdzono w surowicy średnie i wysokie stężenia E1. Natomiast pozostałe osobniki (n = 18) (3 zwierzęta pochodziły z rezerwatu, 15 osobników było ze stada wolnego) w tej klasie wiekowej, u których nie obserwowano spermiogenezy, cechowały się niskim, średnim i wysokim stężeniem E1 w surowicy (ryc. 1). W surowicy żubrów, u których obserwowano spermiogenezę, stwierdzono wyższe średnie stężenie E1 w stosunku do młodych samców, u których nie obserwowano spermiogenezy, przy czym nie była to różnica istotna statystycznie (tab. 1). Porównując zwierzęta ze stwierdzoną spermiogenezą z tymi bez spermiogenezy stwierdzono wysoko istotne różnice w masie ciała (p = 0,007) i masie jądra prawego (p = 0,000) oraz istotne różnice w masie jądra lewego (p = 0,039) (tab. 2, 3, 4).



Ryc. 1. Stężenia estronu w surowicy badanych żubrów w wieku 2 i 3 lat

Tab. 1. Średnie stężenie estronu w surowicy młodych samców żubrów (I – do 2. roku, II – do 3. roku)

Klasa wiekowa	N	Estron (pg/ml)				p	
		Średnia	SD	Min	Max		
I	A	7	506,31	244,77	233,0	858,2	ns, p = 0,802
	B	18	480,03	228,41	145,1	973,7	
II	A	7	468,257	372,931	79,6	1041	ns, p = 0,773
	B	5	471,880	305,964	52,8	829,9	

Tab. 2. Masa ciała młodych samców żubrów (I – do 2. roku, II – do 3. roku)

Klasa wiekowa	N	Masa ciała (kg)				p	
		Średnia	SD	Min	Max		
I	A	7	266,43	53,60	200,00	340,00	p = 0,007
	B	18	215,83	31,49	160,00	280,00	
II	A	7	304,28	18,13	290,00	340,00	ns, p = 0,872
	B	5	308,00	56,30	250,00	390,00	

Tab. 3. Masa lewego jądra młodych samców żubrów (I – do 2. roku, I – do 3. roku)

Klasa wiekowa	N	Masa lewego jądra (g)				p	
		Średnia	SD	Min	Max		
I	A	4	61,57	45,02	15,00	103,00	p = 0,039
	B	14	33,40	11,46	18,00	52,00	
II	A	5	47,70	29,67	18,00	84,00	ns, p = 0,121
	B	3	79,70	3,39	76,00	82,00	

Tab. 4. Masa prawego jądra młodych samców żubrów (I – do 2. roku, II – do 3. roku)

Klasa wiekowa	N	Masa prawego jądra (g)				p	
		Średnia	SD	Min	Max		
I	A	4	68,79	13,06	51,49	83,10	p = 0,000
	B	14	34,13	12,86	16,70	66,50	
II	A	5	85,58	44,89	20,00	137,70	ns, p = 0,233
	B	3	50,96	39,82	19,60	112,50	

Objaśnienia do tab. 1-4: A – młode samce ze spermiogenezą; B – młode samce bez spermiogenezą; ns – nieistotne statystycznie

**Żubry w wieku 3 lat.** W II klasie wiekowej (n = 12) u 7 młodych samców żubra stwierdzono spermiogenezę (58,33%), przy czym 1 osobnik pochodził z rezerwatu, a 6 zwierząt było ze stada wolnego. Pozostałe 5 zwierząt bez spermiogenezą, to 4 osobniki ze stada wolnego i 1 żubr z hodowli zamkniętej. W tej klasie wiekowej u żubrów (ze spermiogenezą) obserwowano znacznie większe zróżnicowanie stężeń E1 w surowicy (od wartości bardzo niskich do wartości bardzo wysokich) w stosunku do zwierząt będących w tej samej klasie wiekowej, u których nie obserwowano spermiogenezą (ryc. 1). W tej klasie wiekowej zarówno żubry, u których stwierdzono spermiogenezę, jak

i zwierzęta, u których nie obserwowano spermiogenezą miały zbliżone średnie stężenie E1 w surowicy (tab. 1). W przypadku zwierząt 3-letnich dla żadnej z analizowanych cech (masy ciała, masy jądra lewego, masy jądra prawego) nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie (tab. 2, 3, 4).

W wykonanych badaniach stwierdzono duże zróżnicowanie wartości stężeń E1 w surowicy dla poszczególnych osobników z obu klas wiekowych, niezależnie od obecności czy braku spermiogenezą (ryc. 1). Stwierdzono również, że w badanej próbie grupa wiekowa nie ma istotnego statystycznie wpływu na poziom estronu (p = 0,819). Podobny wynik uzyskano dla spermiogenezą (p = 0,911). Także interakcja pomiędzy tymi dwoma czynnikami nie ma istotnego statystycznie wpływu na poziom estronu (p = 0,882). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy następującymi parami cech: estron i wiek (w miesiącach), estron i masa ciała, estron i masa jądra prawego, estron i masa jądra lewego.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że spermiogenezą pojawia się stosunkowo rzadko u zwierząt będących w wieku 2 lat, natomiast wśród zwierząt będących w wieku 3 lat obejmuje ponad połowę badanej grupy osobników. Uzyskane wyniki pokrywają się z obserwacjami innych autorów (6-8, 10). Ponadto u żubrów będących w wieku 3 lat spermiogenezą obserwowano zdecydowanie częściej wśród zwierząt pochodzących ze stada wolnego aniżeli z hodowli zamkniętej. W grupie osobników 2-letnich częstość występowania spermiogenezą u osobników z hodowli zamkniętej i stada wolnego była zbliżona. W porównaniu z innymi gatunkami ssaków kopytnych spermiogenezą u żubra pojawia się stosunkowo późno (10). Przykładowo: u jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*) stwierdzono plemniki w ejakulacie osobników będących w wieku 2 lat (15), u daniela (*Dama dama*) w wieku 16 miesięcy (3, 4), zaś u jelenia aksis (*Axis axis*) między 12. a 15. miesiącem (36), u bizona (*Bison bison*) między 18. a 33. miesiącem (16).

W przeprowadzonym badaniu stwierdzono, że 2-letnie żubry ze spermiogenezą uzyskują zdecydowanie większe masy ciała i masy każdego z jąder. Podobną tendencję obserwowano już w poprzednim badaniu, ale nie była ona tak silnie wyrażona (6). Natomiast u starszych zwierząt, 3-letnich, obserwowano zbliżone masy ciała i masy każdego z jąder niezależnie od obecności czy braku spermiogenezą.

W obecnym badaniu obserwowano bardzo duże zróżnicowanie indywidualne wartości stężeń E1 w surowicy młodych żubrów. Podobną prawidłowość obserwowali inni autorzy, oznaczając stężenia innych hormonów płciowych (testosteronu, wolnego testosteronu, 17 $\beta$ -estradiolu) w surowicy żubrów (5, 7, 9). W porównaniu z dorosłymi koźmi, u żubrów ze spermiogenezą obserwowano zdecydowanie wyższe stężenia E1 w surowicy, natomiast u żubrów, u których nie obserwowano spermiogenezą, stężenia E1 w surowicy były zbliżone do wartości obserwowanych u źre-

biał koni (17, 24, 31). Dużą trudnością w interpretacji wyników stężeń E1 w surowicy żubrów jest brak wartości referencyjnych dla tego gatunku. Ponadto nie jest znana dynamika stężeń hormonów płciowych w cyklu rocznym. Zgromadzone wyniki stężeń E1 pochodzą z okresu jesienno-zimowego, a jest to czas przypadający po rui u żubra, która u tego gatunku wypada w okresie od połowy lipca do końca października (12). U innych gatunków dzikich zwierząt po okresie rui obserwowane jest zahamowanie spermatogenezy i spadek stężeń hormonów płciowych w surowicy (3, 4, 15, 25). Być może, ta sama prawidłowość dotycząca aktywności i zahamowania spermatogenezy w cyklu rocznym występuje również u żubra.

Podsumowując, można powiedzieć, że u 3-letnich żubrów spermiogeneza jest częstym zjawiskiem, obejmuje ponad połowę badanych zwierząt. Natomiast u 2-letnich żubrów spermiogeneza pojawia się sporadycznie i stanowi od 16,7% do 28% (6). Jednocześnie u 2-letnich żubrów zaobserwowano, że spermiogeneza występuje u zwierząt o większej masie ciała i większej masie każdego z jąder. Natomiast u 3-letnich żubrów takiej prawidłowości nie obserwowano w odniesieniu do masy ciała oraz masy każdego z jąder. Ponadto u żubrów zaobserwowano bardzo duże zróżnicowanie stężeń E1 w surowicy u poszczególnych osobników. Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w wartościach stężeń E1 w surowicy zwierząt, u których obserwowano spermiogenezę w porównaniu z pozostałymi osobnikami, niezależnie od wieku.

## Piśmiennictwo

1. Bomba G.: Badanie patomorfologiczne jąder żubroni. Rozprawa doktorska, Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie 1995.
2. Bubenik G. A., Miller K. V., Lister A. L., Osborn D. A., Bartos L., Van Der Krak G. J.: Testosterone and estradiol concentrations in serum, velvet skin, and growing antler bone of male white-tailed deer. J. Exp. Zool. 2005, 303A, 186-192.
3. Chaplin R. E., White R. W.: The influence of age and season on the activity of the testes and epididymes of the fallow deer *Dama dama*. J. Reprod. Fert. 1972, 30, 361-369.
4. Chapman D. I., Chapman N. G.: Preliminary observations on the reproductive cycle of male fallow deer (*Dama dama* L.). J. Reprod. Fert. 1970, 21, 1-8.
5. Czykier E.: Comparison of concentration of 17 $\beta$ -estradiol (E2) and total testosterone (TT) in serum in young males of European bison with or without spermiogenesis. European Bison Conservation Newsletter 2010, 3, 17-24.
6. Czykier E.: Is spermiogenesis common or rare in young male European bison aged 2 and 3 years? Pol. J. Vet. Sci. 2011, 2, 239-244.
7. Czykier E.: Serum concentration of free testosterone (FT) in European bison with early spermiogenesis – a preliminary study. European Bison Conservation Newsletter 2008, 1, 65-71.
8. Czykier E., Krasińska M.: Cases of spermiogenesis in young European bison. Acta Theriol. 2004, 49, 543-554.
9. Czykier E., Krasińska M.: Stężenia wolnego testosteronu w surowicy samców żubra (*Bison bonasus*) w zależności od wieku, masy ciała i masy jąder – badanie wstępne. Parki Nar. Rez. Przyr. 2006, 25, 119-131.
10. Czykier E., Sawicki B., Krasińska M.: Postnatal development of the European bison spermatogenesis. Acta Theriol. 1999, 44, 77-90.
11. Eiler H., Graves C. N.: Oestrogen content of semen and the effect of exogenous oestradiol-17beta on the oestrogen and androgen concentration in semen and blood plasma of bulls. J. Reprod. Fert. 1977, 50, 17-21.
12. Daleszczyk K., Czykier E.: Do European bison bulls in Białowieża Forest differ in their rutting behaviour depending on age? European Bison Conservation Newsletter 2010, 3, 5-16.
13. Ganjam V. K., Kenney R. M.: Androgens and oestrogens in normal and cryptorchid stallions. J. Reprod. Fert. Suppl. 1975, 23, 67-73.
14. Gill J.: Zarys fizjologii żubra. Wydawnictwo Severus, Warszawa 1999, 42-60.
15. Haigh J. C., Cates W. F., Glower G. J., Rawlings N. C.: Relationships between seasonal changes in serum testosterone concentrations, scrotal circumference and sperm morphology of male wapiti (*Cervus elaphus*). J. Reprod. Fert. 1984, 70, 413-418.
16. Helbig L., Woodbury M. R., Haigh J. C., Collins J., Barth A. D.: The seasonal fertility of North American bison (*Bison bison*) bulls. Anim. Reprod. Sci. 2007, 97, 265-277.
17. Hoffmann B., Landeck A.: Testicular endocrine function, seasonality and semen quality of the stallion. Anim. Reprod. Sci. 1999, 57, 89-98.
18. Inoue J., Cerbito W. A., Oguri N., Matsuzawa T., Sato K.: Serum levels of testosterone and oestrogens in normal and infertile stallions. Int. J. Androl. 1993, 16, 155-158.
19. Jaczewski Z.: Reproduction of the European bison, *Bison bonasus* (L.) in reserves. Acta Theriol. 1958, 1, 333-376.
20. Jakowicki J. A.: Jajnik, [w:] Kurpisz M.: Molekularne podstawy rozrodczości człowieka i innych ssaków. Termedia Wydawnictwa Medyczne, Poznań 2002, 115-126.
21. Krasińska M., Krasiński Z. A.: European bison. The Nature Monograph. Mammal Research Institute, Polish Academy of Sciences, Białowieża 2007.
22. Krasińska M., Krasiński Z. A.: Przebieg i dyspersja choroby nekrotycznego zapalenia napletka samców żubra na terenie polskiej części Puszczy Białowiejskiej. Parki Nar. Rez. Przyr. 2010, 29, 107-128.
23. Krasiński Z. A., Cabiń-Raczyńska K., Krasińska M.: Immobilizing and marking of the European bison. Acta Theriol. 1982, 27, 181-190.
24. Lemazurier E., Toquet M. P., Fortier G., Seralini G. E.: Sex steroids in serum prepubertal male and female horses and correlation with bone characteristics. Steroids 2002, 67, 361-369.
25. Lincoln G. A.: The seasonal reproductive changes in the Red deer stag (*Cervus elaphus*). J. Zool. 1971, 163, 105-123.
26. Matuszewska M., Sysa P.: Epididymal cysts in European bison. J. Wildl. Dis. 2002, 38, 637-640.
27. Matuszewska M., Sysa P.: Epididymal defects in European bison. Folia Morphol. 2001, 60, Suppl. 145.
28. Mohr E.: Der Wisent. Die Neue Brehm-Bücherei 1952, 74, 1-74.
29. Paziewska A., Bilińska B.: Estrogeny i ich rola w regulacji spermatogenezy. Postępy Biol. Komórki 2003, 30, 461-481.
30. Piusiński W., Bielecki W., Malicka E., Kita J., Dziąbka K., Osińska B., Anusz K., Kowalski B., Lenartowicz-Kubrat Z.: Pathomorphology and pathogenesis of diseased genital organs (prepuce and penis) of bison in the Białowieża Forest. Medycyna Wet. 1997, 53, 596-600.
31. Raeside J. I., Christie H. L.: Estrogen concentrations in semen of the stallion. Anim. Reprod. Sci. 1997, 48, 293-300.
32. Roser J. F., Hughes J. P.: Seasonal effects on seminal quality, plasma hormone concentrations, and GnRH-induced LH response in fertile and subfertile stallions. J. Androl. 1992, 13, 214-223.
33. Stewart B. L., Roser J. F.: Effects of age, season, and fertility status on plasma and intratesticular immunoreactive (IR) inhibin concentrations in stallions. Domest. Anim. Endocrinol. 1998, 15, 129-139.
34. Sysa P., Matuszewska M.: Cytogenetic, ultrastructure of seminiferous tubules and epididymal cysts in European bison *Bison bonasus* (L.), [w:] Kita J., Anusz K.: Health threats for the European bison particularly in free-roaming populations in Poland. Wyd. SGGW, Warszawa 2006, 244-249.
35. Weathersbee P. S., Lodge J. R.: Serum testosterone and estrogen concentrations in the Holstein-Friesian bull after successive ejaculations. Am. J. Vet. Res. 1976, 37, 465-467.
36. Webster J. R., Suttie J. M., Veenliet B. A., Corson I. D., Labes R. E.: Changes in live weight and the reproductive tract of farmed red deer stags from 6 to 27 months of age, [w:] Brown R. D.: The biology of deer. Springer-Verlag, New York 1992, 339-342.
37. Węgrzyn M., Serwatka S.: Teeth eruption in the European bison. Acta Theriol. 1984, 29, 111-121.
38. Zablocki M. A.: Neobhodimost izučenija osobennosti žubra i ego vosstanowlenije v SSSR. Naučno-Metodičeske Zapiski 1949, 13, 128-1146.

Adres autora: dr nauk med. Elżbieta Czykier, ul. Waszyngtona 13, 15-269 Białystok; e-mail: czykier@umwb.edu.pl