Zróżnicowanie masy ciała i masy jąder oraz jakości nasienia samców saren pochodzących z Wyżyny Lubelskiej w sezonie reprodukcyjnym

MARIAN FLIS, ZYGMUNT WRONA*, ZBIGNIEW NOZDRYN-PŁOTNICKI**

Katedra Zoologii, Ekologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

*Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, **Katedra Anatomii Patologicznej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Otrzymano 13.01.2016

Zaakceptowano 10.04.2017

Flis M., Wrona Z., Nozdrzyn-Płotnicki Z.

Differentiation in body and testes weight as well as sperm quality of male roe deer from the Lublin Upland in the reproductive season

Summary

The aim of the study was to evaluate the morphology structure of sperm cells and quality of individual male deer obtained in the Lublin Upland during the 2015/2016 hunting season. The comparison included two separate periods of the hunting season resulting from varying physiological processes related to the estrus period of this species. In the first study with regards to the estrus period, males were characterized by an average of 1.6 grams less testicle weight, while body weight was 1.9 kg higher. Increasing the mass of the testicles in the reproductive season proceeded simultaneously with the increase in the share of properly developed sperm cells to the level of 70.6%. During the pre-estrus period, the percentage of spermatozooids with main and secondary defects accounted for almost 60%. Between the compared periods, an approximately 6.8% body weight loss occurred. The highest percentage of properly developed spermatozooids was present in deer aged 4 and 5 years. Regarding the greatest body weight loss in these two age groups, it is indicated that this age is the climax in terms of potential accession to the breeding and effective mating of females and the possibility of fertilization. Analysis of the relationship between body weight and testicle weight showed low and statistically insignificant correlation coefficients ($r_{xy} = 0.331-0.393$) between those features.

Keywords: body mass, sperm defects, reproduction season, male roe deer, Lublin Upland

Sarna europejska (*Capreolus capreolus*) jest typowym przedstawicielem zwierząt o wyraźnie zaznaczonej sezonowości rozrodu. U samców tego gatunku przebieg procesów fizjologicznych i morfologicznych związanych z rozrodem uwarunkowany jest cyklicznymi, corocznie powtarzającymi się zmianami w rozwoju i inwolucji jąder oraz okresową aktywnością dodatkowych gruczołów płciowych. W cyklu rocznym obserwowane jest wzmożenie aktywności płciowej, przypadającej na drugą połowę lipca i pierwszą sierpnia. Okres ten cechuje się przede wszystkim zmianami wielkości i masy jąder, wynikającymi ze wzmożonych procesów spermatogenezy. Procesom tym towarzyszą zmiany światła kanalików plemnikotwórczych, co uwarunkowane jest wahaniami aktywności mitotycznej i meiotycznej komórek kanalików nasieniotwórczych. Wielkość jąder oraz liczba komórek Sertoliego niejednokrotnie wykorzystywane są jako miernik procesów

spermatogenezy, w aspekcie ilości i jakości plemników (3, 11, 14, 18, 19, 22, 24).

W procesach spermatogenezy dość istotną rolę odgrywa również plazma nasienia, składająca się z wydzielin pęcherzyków nasiennych, prostaty oraz jąder i najądrzy, jak również gruczołów opuszkowo-cewkowych. Tworzy ona specyficzne środowisko dla plemników, w którym nabierają one zdolności do zapłodnienia. Od prawidłowego przebiegu czynności sekrecyjnych męskich gruczołów rozrodczych zależą właściwości plemników rzutujące na późniejsze procesy zapłodnienia komórki jajowej (4, 22). W sytuacjach zakłócenia przebiegu czynności gruczołów i narządów płciowych mamy do czynienia z występowaniem licznych wad plemników, które w andrologii określane są jako wady główne i wady podrzędne. Dodatkowo wszelkie zakłócenia czynności sekrecyjnych gruczołów i narządów rozrodczych u samców z rodziny

jeleniowatych wywierają negatywny wpływ na przebieg corocznego cyklu nakładania i zrzucania poroży, będącego drugorzędową cechą płciową. Zakłócenia te przyczyniają się do powstawania form myłkusowatych, jak również do wykształcania form perukarza (1, 2, 6, 7, 9, 17, 18).

Według badań różnych autorów, najlepsza jakość nasienia powinna występować w szczytowym okresie rui, co gwarantuje sukces reprodukcyjny. Wysoki odsetek plemników o prawidłowej budowie morfologicznej zwiększa potencjalne możliwości zapłodnienia komórki jajowej (2). Dodatkowo u zwierząt dzikich, u których zachodzą procesy doboru naturalnego, w reprodukcji dość istotną rolę odgrywa kondycja osobnicza samców danego gatunku, gdyż z reguły pozostawiają one w sezonie rozrodczym kilka sztuk potomstwa. U saren obserwowane jest zjawisko silnego terytorializmu związanego z aktywnością płciową. Z kolei terytorializm dość mocno powiązany jest z jakością osobniczą zwierząt (3, 5, 8, 18).

Celem badań była ocena zróżnicowania właściwości plemników, a tym samym procesów spermatogenezy, w oparciu o ocenę ich budowy morfologicznej, u samców saren pozyskanych w drodze odstrzału, w poszczególnych okresach sezonu rozrodczego z uwzględnieniem wieku i kondycji osobniczej wyrażonej masą ciała i wielkością jąder. Ten sposób pozyskania materiału badawczego (tzn. poprzez odstrzał) uniemożliwia zastosowanie innych technik badawczych, standardowo stosowanych do oceny nasienia samców zwierząt.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły samce saren pozyskane w wyniku odstrzału w sezonie łowieckim 2015/2016, w obwodach łowieckich Wyżyny Lubelskiej. Zwierzęta podzielono na dwie grupy. Pierwsza z nich obejmowała samce pozyskane w okresie od 11 maja do 30 maja, zaś druga od 20 lipca do 20 sierpnia. Pierwszy z wyodrębnionych przedziałów czasowych obejmował okres przedruiowy, zaś drugi szczytowy okres rui u tego gatunku (11, 18, 23). Dodatkowo z pozyskanego materiału wyodrębniono 4 grupy wiekowe. Pierwsza z nich obejmowała rogate 2-letnie, druga – 3-letnie, trzecia kozły 4-letnie, zaś czwarta – 5-letnie. Ostatnia grupa obejmowała osobniki w wieku 6 lat i powyżej. Tego rodzaju podział uwarunkowany jest zmianami rozwoju osobniczego zwierząt i powszechnie stosowany w ocenie jakości osobniczej u tego gatunku (5, 8, 9, 18). Bezpośrednio po pozyskaniu każdego rogate ustalano jego masę ciała poprzez bezpośrednie ważenie na wadze z dokładnością do 0,1 kg. Wiek pozyskanych zwierząt określano bezpośrednio w terenie w oparciu o charakterystyczne zmiany zębów przedtrzonowych i trzonowych, co jest powszechnie stosowane w praktyce łowieckiej i badaniach naukowych (20). Po wykonaniu opisanych czynności wypreparowywano jądra wraz z workiem mosznym i schłodzono je do temperatury 4°C. Następnie w warunkach laboratoryjnych dokonywano preparacji jąder i ich ważenia na wadze laboratoryjnej

z dokładnością do 0,1 grama. Materiał badawczy stanowiło łącznie 50 osobników pozyskanych poprzez odstrzał. Po wypreparowaniu jąder poddano je ocenie makroskopowej uwzględniającej obecność głowy, trzonu i ogona najądrza, zarówno na prawym, jak i na lewym jądrze. W badaniu finalnym ocenie poddano materiał pobrany od 38 kozłów. Wynikało to z faktu, że w 12 przypadkach nie dało się ustalić właściwości plemników, ze względu na brak lub stwierdzenie pojedynczych plemników w polu widzenia, w pobranym materiale z ogona najądrza. Po nacięciu ogona najądrza i lekkim uciśnięciu, poprzez aspirację igłą wraz ze strzykawką, pobierano po 0,1 ml zawartości, rozcieńczano w stosunku 1 : 2 w 2,9% cytrynianie sodu i wykonywano rozmazy na szkiełkach podstawowych według standardów obowiązujących przy przygotowaniu rozmazów z nasienia. Preparaty barwiono metodą bydgoską. Plemniki oceniano w mikroskopie świetlnym Olympus CX4 z dołączoną kamerą Baslera A312 w powiększeniu 1000-krotnym, pod imersją. Obraz z kamery odczytywany był na monitorze komputera, co ułatwiło pracę oraz znacznie poprawiło dokładność badania. W rozmazach nasienia, zabarwionych fioletem goryczki (metoda bydgoska) oceniano po 300 plemników. Ocena opierała się na wyliczeniu odsetka plemników z wadami głównymi i podrzędnymi oraz plemników o prawidłowej budowie morfologicznej, opierając się na klasyfikacji podanej przez Bloma. Wady główne definiowane są jako wady wysoko skorelowane z obniżeniem płodności. Wady podrzędne to szereg nieprawidłowości budowy, które mają mniejsze znaczenie w procesach zapłodnienia (2).

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej obejmującej obliczenie współczynników korelacji i istotności różnic pomiędzy średnimi wartościami poszczególnych cech, z wykorzystaniem testu Tukeya w programie Statistica 5.0.

Wyniki i omówienie

Analiza budowy morfologicznej plemników w grupach wiekowych uwidacznia wyraźne różnice w proporcjach plemników prawidłowo wykształconych pomiędzy okresami badań (tab. 1). W okresie przedruiowym udział plemników o prawidłowej budowie morfologicznej zawierał się w przedziale od 33,3% u kozłów 3-letnich do 47,7% u kozłów najstarszej grupy wiekowej. W okresie rui najwięcej plemników prawidłowo wykształconych występowało u kozłów 3-letnich (81,0%), jednak w grupie tej próbę stanowiły tylko 2 rogate. W grupie kozłów 4- oraz 5-letnich plemniki prawidłowo wykształcone stanowiły, odpowiednio, 74,1% i 71,9%. U kozłów najstarszej grupy wiekowej stwierdzono w tym okresie 57,7% prawidłowo wykształconych plemników. Średnio pomiędzy okresami badań odsetek plemników prawidłowo wykształconych zwiększył się ponad 1,5-krotnie. Z kolei w sezonie reprodukcyjnym wystąpił spadek procentowy udziału plemników z wadami głównymi i podrzędnymi, który kształtował się na poziomie, wynoszącym, odpowiednio, 49,8% oraz 48,2%.

Ocena morfologiczna plemników pochodzących z lewego i prawego jądra wskazuje, iż nie wystąpiła

Tab. 1. Procentowy udział plemników o prawidłowej budowie morfologicznej, z wadami głównymi i podrzędnymi u badanych kozłów w poszczególnych grupach wiekowych

Wiek/lata		Plemniki					
		prawidłowo wykształcone		z wadami głównymi		z wadami podrzędnymi	
		Okres I	Okres II	Okres I	Okres II	Okres I	Okres II
2	n	–	2	–	2	–	2
	$\bar{x}$	–	61,5	–	19,8	–	18,7
	SD	–	0,70	–	20,03	–	20,73
3	n	3	2	3	2	3	2
	$\bar{x}$	33,3	81,0	27,7	4,0	39,0	15,0
	SD	2,90	11,31	13,79	1,41	16,69	12,72
4	n	5	8	5	8	5	8
	$\bar{x}$	41,5	74,1	24,8	6,9	33,7	19,0
	SD	11,07	11,64	14,37	6,54	8,93	9,53
5	n	5	6	5	6	5	6
	$\bar{x}$	45,7	71,9	12,9	6,2	41,4	21,9
	SD	14,97	12,32	11,35	3,71	13,61	11,48
6 i starsze	n	4	3	4	3	4	3
	$\bar{x}$	47,7	57,7	15,0	22,1	37,3	20,22
	SD	6,47	16,16	4,63	24,16	9,62	15,76
Średnio	n	17	21	17	21	17	21
	$\bar{x}$	42,7	70,6	19,5	9,8	37,8	19,6
	SD	11,02	12,94	12,30	11,85	11,30	11,10

Ryc. 1. Udział plemników prawidłowych i z wadami w lewych i prawych jądrach w okresach badań

wyraźna asymetria kierunkowa w jakości plemników (ryc. 1). W pierwszym okresie badań większy udział plemników wykształconych prawidłowo wystąpił w prawych jądrach, a różnica wynosiła 6,5%. Z kolei w drugim okresie badań ponad 20% więcej plemników prawidłowych stwierdzono w jądrach lewych. Występowanie plemników z wadami głównymi w obydwu okresach było zbliżone. Większy udział plemników z wadami podrzędnymi w pierwszym okresie badań wystąpił w lewych jądrach (różnica 8,8%), zaś

w drugim okresie w jądrach prawych, gdzie różnica była wyraźna i kształtowała się na poziomie 20,4%.

Ocena kondycji osobniczej pozyskanych samców saren wykazała znaczne zróżnicowanie masy ciała w poszczególnych grupach wiekowych w okresach badań (tab. 2). W pierwszym okresie średnia masa ciała wzrastała wraz z wiekiem zwierząt, a osobniki najstarszej grupy wiekowej ważyły średnio 30,6 kg. Średnia wartość tej cechy niezależnie od wieku wynosiła 29,4 kg. Z kolei w sezonie reprodukcyjnym największa masa ciała, wynosząca 28,5 kg, wystąpiła u rogaczy 3-letnich, lecz dotyczyła ona próby 2 osobników i pomimo wykonania obliczeń statystycznych dane te należy traktować wyłącznie pogładowo. Porównanie średnich wartości masy ciała pomiędzy okresami badań wykazało statystycznie istotne różnice tej cechy w grupie osobników 3-, 4- i 5-letnich. W grupie kozłów 4- oraz 5-letnich różnica ta była statystycznie istotna, zaś w grupie rogaczy najstarszych, różnica w wartości tej cechy okazała się statystycznie nieistotna ($p \geq 0,05$). W pierwszym okresie badań najcięższe jądra występowały u osobników dwóch najstarszych grup wiekowych. Z kolei w drugim okresie badań najwyższa wartość tej cechy, podobnie jak w przypadku masy tuszy, wystąpiła u kozłów 3-letnich, lecz ze względu na niewielką liczebność próby dane te należy traktować jako pogładowe. Pomiedzy okresami badań średnia masa jąder kozłów zwiększyła się o 5,8%, jednak różnica ta była statystycznie nieistotna ($p \geq 0,05$).

Obliczony współczynnik korelacji pomiędzy średnią masą ciała a średnią masą jąder był zróżnicowany i w pierwszym okresie badań

zawierał się w przedziale od $r_{xy} = 0,370$ u kozłów najstarszych do $r_{xy} = 0,607$ u kozłów 4-letnich. W drugim okresie badań wartość współczynnika korelacji zawierała się w przedziale $r_{xy} = 0,452-0,681$. Ogólnie dla całej próby, z wyjątkiem kozłów najmłodszych wartość współczynnika korelacji pomiędzy masą tuszy a masą jąder zawierała się w przedziale od $r_{xy} = 0,331$ (kozły 3- i 5-letnie) do $r_{xy} = 0,393$ (kozły 4-letnie) i we wszystkich przypadkach była statystycznie nieistotna ($p \geq 0,05$).

Tab. 2. Masa ciała (kg) i masa jąder (g) badanych kozłów

Wiek (lata)		Masa ciała		Masa jąder	
		Okres I	Okres II	Okres I	Okres II
2	n	–	2	–	2
	$\bar{x}$	–	20,0	–	19,0
	SD	–	1,41	–	2,12
3	n	3	2	3	2
	$\bar{x}$	23,9 ^a	28,5 ^b	17,7 ^a	37,3 ^b
	SD	0,90	1,34	3,05	14,49
4	n	5	12	5	12
	$\bar{x}$	29,4 ^a	26,5 ^b	21,8 ^a	28,5 ^a
	SD	3,33	1,80	5,80	7,00
5	n	6	6	6	6
	$\bar{x}$	30,4 ^a	27,5 ^b	31,1 ^a	28,8 ^a
	SD	1,56	3,49	9,86	4,84
6 i starsze	n	8	6	6	6
	$\bar{x}$	30,6 ^a	28,3 ^a	27,1 ^a	24,0 ^a
	SD	2,69	2,16	8,64	7,22

Objaśnienia: a, b – średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

Tab. 3. Współczynniki korelacji (r_{xy}) pomiędzy masą ciała a masą jąder w okresach badań

Wiek (lata)	Okres I	Okres II	Razem
2	–	0,681*	0,681*
3	0,582*	0,578*	0,331
4	0,607*	0,532	0,393
5	0,447	0,611*	0,331
6 i starsze	0,370	0,452	0,362

Objaśnienie: * $p \leq 0,05$

Uzyskane wyniki potwierdzają tezę różnych autorów o wyraźnych zmianach anatomiczno-fizjologicznych związanych z sezonowością rozrodu u samców saren. W czasie rui i okresie bezpośrednio ją poprzedzającym, w związku z intensywnym przebiegiem procesów spermatogenezy, obserwowany jest wyraźny wzrost wielkości i masy jąder, przy jednoczesnym spadku masy ciała (3, 10, 11, 13, 18, 24) spowodowanym, jak się wydaje, intensywnym poszukiwaniem samic będących w rui, pilnowaniem własnego rejonu oraz walkami z innymi kozłami, potencjalnymi rywalami. Badania prowadzone w rejonie Wielkopolski w 2012 r. wykazały spadek masy ciała u kozłów pomiędzy majem a wrześniem na poziomie 1,1 kg. Z kolei wzrost masy jąder pomiędzy majem a lipcem wynosił 23,2% (12). Wyniki badań mechanizmów spermatogenezy u samców saren prowadzonych w Niemczech w latach 1998-2000 wykazały 14,6% przyrost masy jąder pomiędzy majem a lipcem oraz 53,5% spadek tej cechy pomiędzy sierpniem a wrześniem (21). Potwierdzeniem tego są również wyniki badań angielskich z połowy lat 60. ubiegłego wieku (24). Z kolei wyniki badań prowadzo-

nych w latach 2001/2005 na terenie pięciu województw północnej Polski uwidoczniły, iż pozyskiwane kozły największą masę ciała posiadały w czerwcu i lipcu, a najmniejszą we wrześniu (13). Podobne wyniki uzyskali Flis i Gugała w badaniach prowadzonych na Lubelszczyźnie (10). Wykazaną niską zależność pomiędzy masą tuszy i masą jąder potwierdzają również badania Komosy i wsp. z lat 2009-2011 (15).

Wyniki przeprowadzonej analizy morfologicznej plemników uwidaczniają, że w wyodrębnionych okresach sezonu rozrodczego wraz ze zmianą masy jąder wzrosła jakość plemników. Potwierdzają one wcześniej uzyskane wyniki. W badaniach prowadzonych na Podkarpaciu w latach 2007-2010 najwyższy udział nieprawidłowych plemników wystąpił w maju. Z kolei w szczytowym okresie rui odsetek anormalnych plemników był najniższy, przy jednoczesnym najmniejszym udziale wad głównych (16).

Przedstawione wyniki badań wskazują na znaczne zróżnicowanie przebiegu procesów spermatogenezy, a tym samym jakości nasienia w poszczególnych okresach sezonu rujowego. W okresie przedrujowym samce charakteryzowały się mniejszą masą jąder, przy jednoczesnym większym udziale plemników z wadami. W okresie tym plemniki wykształcone prawidłowo stanowiły niespełna 43% udziału. W sezonie reprodukcyjnym u samców wystąpiło zwiększenie masy jąder, z jednoczesnym wzrostem do poziomu przekraczającego nieco 70% plemników wykształconych prawidłowo. Z kolei pomiędzy okresami badań wystąpił 6,8% spadek masy ciała. W okresie rui największy odsetek plemników wykształconych prawidłowo występował u 4- i 5-letnich rogaczy. Jednocześnie u tych samych grup wiekowych wystąpił największy spadek masy ciała pomiędzy porównywanymi okresami. Wskazuje to, iż wiek ten jest kulminacyjnym w zakresie rozwoju osobniczego pod względem potencjalnych możliwości przystępowania do rozrodu oraz skutecznego pokrycia samic i możliwości zapłodnienia. Nie wykazano istotnych zależności pomiędzy masą ciała a masą jąder.

Piśmiennictwo

- Agren E. O., Uhlhorn H., Bröjer C., Gavier-Widén D.: Peruke antlers in Roe deer. Studies on peruke antlers in roe deer (*Capreolus capreolus*). ESVP Annual Meeting 2-5 September. Helsinki, Finland 2015.
- Blom E.: Pathological conditions in genital organs and sperm as a cause for the rejection of breeding bulls for import into and export from Denmark (an andrologic retrospective, 1985-1982). Nord. Vet. Med. 1983, 35, 105-130.
- Blottner S., Hingst O., Meyer H. H. D.: Seasonal spermatogenesis and testosterone production in roe deer (*Capreolus capreolus*). J. of Reprod. and Fert. 1996, 108, 299-305.
- Chemes H. E., Rawe V. Y.: Sperm pathology: a step beyond descriptive morphology. Origin, characterization and fertility potential of abnormal sperm phenotypes in infertile men. Human Reprod. Update 2003, 9, 405-528.
- Flis M.: Jakość osobnicza samców saren na Wyżynie Lubelskiej w zróżnicowanych warunkach środowiskowo-klimatycznych. Sylwan 2012, 156, 548-556.
- Flis M.: Myłkusy, myłkusy... Łowiec Lubelski 2006, 4/41, 8-9.
- Flis M.: Rzadkie trofeum. Łowiec Polski 2007, 6, 18-22.
- Flis M.: Zmienność jakości osobniczej i wskaźników wydajności poubojowej saren na Wyżynie Lubelskiej. Roczn. Nauk. Pol. Tow. Zoot. 2015, 11, 53-63.
- Flis M.: Zróżnicowanie jakości osobniczej saren z obwodów łowieckich polskich i leśnych na Wyżynie Lubelskiej. Roczn. Nauk. Pol. Tow. Zoot. 2010, 6, 121-129.

10. Flis M., Gugala D.: Zmienność masy ciała i rozwoju gonad samców saren (*Capreolus capreolus* L.) w różnych okresach sezonu rozrodczego na Wyżynie Lubelskiej. *Przegl. Leśniczy* 2016, 4, 18-20.
11. Goeritz F., Quest M., Wagener A., Fassbender M., Broich A., Hildebrandt T. B., Hofmann R. R., Blottner S.: Seasonal timing of sperm production in roe deer: interrelationship among changes in ejaculate parameters, morphology and function of testis and accessory glands. *Internat. J. of Anim. Reprod.* 2003, 59, 1487-1502.
12. Jakubowski M., Górecki G., Komosa M., Frąckowiak H., Dzierżęcka M., Skubis J., Skorupski M.: Changes of the testes parameters, Caracas and antlers mass of harvested roe deer (*Capreolus capreolus*) buck. *Biologia* 2014, 69, 1247-1249.
13. Janiszewski P., Daszkiewicz T., Hanzal V.: Wpływ czynników przyrodniczych i terminu odstrzału na masę tuszy sarny europejskiej (*Capreolus capreolus* L.). *Leśne Prace Badawcze* 2009, 70, 123-130.
14. Klonisch T., Schrön J., Hombach-Klonisch S., Blottner S.: The roe deer as a model for studying seasonal regulation of testis function. *Internat. J. Andrology* 2006, 29, 122-128.
15. Komosa M., Frąckowiak H., Purzyc H.: Changes in testis parameters and the weight of antlers and carcass in males of the European roe deer (*Capreolus capreolus*) between 2009 and 2011. *J. Biol. Rhythm Res.* 2013, 44, 151-161.
16. Kozioł K., Koziorowski M.: Morphological defects of epididymal spermatozoa in male roe deer (*Capreolus capreolus*) during the reproductive season. *Pol. J. Vet. Sci.* 2015, 18, 565-572.
17. Kozioł K., Koziorowski M.: Steroid hormones in peripheral blood plasma and androgen receptors in testis and epididymis of roe deer male (*Capreolus capreolus*) during the reproduction season. *Small Rum. Res.* 2013, 115, 86-93.
18. Pielowski Z.: Sarna. Wyd. Świat, Warszawa 1999, s. 54-56.
19. Pintus E., Ros-Santaella J. L., Garde J. J.: Beyond Testis Size: Links between Spermatogenesis and Sperm Traits in a Seasonal Breeding Mammal. 2015. *PLoS ONE* 10(10): e0139240. doi:10.1371/journal.pone.0139240.
20. Przybylski A.: Klucz do oznaczania wieku jeleni, danieli, saren, muflonów i dzików. Wyd. Zachodni Poradnik Łowiecki, Piła 2008, s. 28-36.
21. Roelants H., Schneider F., Goeritz F., Streich J., Blotner S.: Seasonal changes of spermatogonial proliferation in roe deer, demonstrated by flow cytometric analysis of c-kit receptor, in relation to follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, and testosterone. *Biol. Reprod.* 2002, 66, 305-312.
22. Schön J., Göritz F., Sterich J., Blottner S.: Histological organization of roe deer testis throughout the seasonal cycle: Variable and constant components of tubular and interstitial compartment. *Anatomy Embryology* 2004, 208, 151-159.
23. Sempere A. J., Mauget R., Mauget C.: Reproductive physiology of roe deer, [w:] Andersen R., Duncan P., Linnell J. D. C.: The European Roe Deer. The Biology of Success. Scand Uni Press. Oslo 1998, s. 161-188.
24. Short R. V., Mann T.: The sexual cycle of a seasonally breeding mammal, the roebuck (*Capreolus capreolus*). *J. Reprod. Fertil.* 1966, 12, 337-351.

Adres autora: dr hab. Marian Flis, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin;
e-mail: marian.flis@up.lublin.pl