

**КОНЦЕНТРАЦИЯ ЭСТРАДИОЛА В КРОВИ БЫКОВ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА СПЕРМОПРОДУКЦИЮ И РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ ОСЕМЕНЕНИЯ****А.И. АБИЛОВ<sup>1</sup>, Г.В. ЕСКИН<sup>1</sup>, Н.А. КОМБАРОВА<sup>2</sup>**

Развитие технологий искусственного осеменения сопряжено с углубленным изучением влияния гормональной и иммунной системы на качество спермопродукции у животных-производителей. В том числе обсуждается роль фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов в процессе сперматогенеза. Показана взаимосвязь между концентрацией тестостерона и эстрадиола в крови у самцов и участие в этом процессе тестостерон-эстрадиолсвязывающего глобулина. Нами впервые проведено комплексное изучение концентрации эстрадиола как маркера процесса воспроизведения у быков-производителей в разные сезоны года и выявлено ее влияния на количественные и качественные показатели спермопродукции, а также на результативность искусственного осеменения. Содержание эстрадиола в крови быков-производителей определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-набора Иммуно-ФА-Э на оборудовании Униплан (ЗАО «Пикон», Россия). Анализируемые показатели оценили у 18 быков голштинской породы разного возраста ( $30 \pm 6$  мес), спермой которых были осеменены 214 коров. Установлено, что содержание эндогенного эстрадиола в крови быков-производителей зависит от времени года ( $P < 0,001$ ). Весной у большинства быков-производителей (78 % выборки) концентрация эстрадиола была минимальной (до 0,100 нмоль/л) и только у 17 % она достоверно ( $P < 0,001$ ) превышала максимальное значение (0,200 нмоль/л). В осенний период фиксировали достоверный рост количества эстрадиола ( $P < 0,001$ ) у 94 % быков-производителей. С повышением концентрации эстрадиола в сыворотке крови быков в 2 раза и более объем эякулята снижался на 31 % (соответственно 4,6 мл против 3,5 мл), как следствие, уменьшался выход качественных сперматозоидов (примерно на 50 % — 171 доза против 112). Доказана статистически достоверная взаимосвязь между концентрацией эстрадиола в крови быков-производителей и результативностью осеменения (12-17 % после одного осеменения при  $P < 0,05$ ; 17-29 % от первого осеменения при  $P < 0,001$ ). Таким образом, определение концентрации эстрадиола может быть использовано в качестве дополнительного теста для индивидуальной оценки потенциала эякулятов от быков-производителей с целью повышения результативности искусственного осеменения.

**Ключевые слова:** эстрадиол, быки-производители, сезонность, показатели семени, результативность осеменения.

Для эффективной племенной работы и искусственного осеменения сельскохозяйственных животных необходимо рациональное использование получаемой от производителей спермы (1), что требует, в свою очередь, углубленного изучения роли гормональной и иммунной систем в спермопродукции. Еще В.К. Милованов (2) отмечал большое значение половых гормонов для нормального функционирования не только органов воспроизводства, но и всего организма быков-производителей. Известно, что половая функция животных находится под нейроэндокринным контролем. Действие гормонов на обмен веществ и все физиологические функции проявляется при очень низких концентрациях ( $10^{-6}$ - $10^{-12}$  моль/л) (3). У всех млекопитающих сперматогенез регулируется пептидными и стероидными гормонами — фолликулостимулирующим (ФСГ) и лютеинизирующим (ЛГ), тестостероном, эстрадиолом и др. (4). Под воздействием ЛГ, который выделяет гипофиз после наступления половой зрелости, клетки Лейдига начинают активно синтезировать тестостерон, воздействующий на сперматогенные клетки Сертоли. Стероидные гормоны, выделяемые семенниками, представлены андрогенами и прогестероном. Они легко проникают в цитоплазму и контролируют функцию клетки при участии специфических высокомолекулярных белковых рецепторов (3, 5-7).

Достоверные изменения в содержании тестостерона зафиксированы у животных разного происхождения. Так, в Свердловской области у быков-производителей, завезенных из-за рубежа, концентрация тестосте-

рона была в 1,64 раза выше, чем у отечественных быков ( $14,28 \pm 2,26$  против  $8,72 \pm 1,92$  нмоль/л) (8). М. Anderson (9) показал положительную корреляцию между концентрацией тестостерона у быков и частотой наступления стельности у коров. Также отмечена высокая положительная корреляция между содержанием сперматозоидов в семени и количеством тестостерона, а также отрицательная корреляция между рН семени и концентрацией тестостерона в крови (10). Уровень тестостерона в крови быков зависит от их возраста и породы (у мясных пород он выше, чем у молочных) и от внешних факторов (11). Показана положительная корреляция между концентрацией холестерина и тестостерона у быков: с повышением первого показателя возрастает второй (12).

При образовании комплекса тестостерона и эстрадиола основную роль играет тестостерон-эстрадиолсвязывающий глобулин, который выполняет транспортную, регуляторную и протективную функции. Некоторое количество андрогенов превращается в дигидротестостерон и эстрадиол. Эстрадиол синтезируется из тестостерона с участием фермента ароматазы (13, 14). У самцов млекопитающих в надпочечниках тоже вырабатываются эстрогены, причем отмечается их положительное влияние на качество спермопродукции.

Эстрогены влияют на развитие половых органов и вторичные половые признаки, на жировой обмен (в частности, повышают содержание фосфолипидов и  $\beta$ -липопротеинов в плазме крови, снижают содержание холестерина и  $\alpha$ -липопротеинов), стимулируют анаболизм белков, продукцию соматотропного гормона, замедляют рост костей у половозрелых животных. Под действием эстрогенов происходит стимуляция ретикуло-эндотелиальной системы и повышается резистентность организма к инфекциям, а также усиливается регенерация тканей (3). ЛГ вызывает секрецию андрогенов в семенниках, стимулирует развитие интерстициальной ткани и выработку мужского гормона тестостерона, совместно с ФСГ способствует разрастанию семенных канальцев (начальные стадии сперматогенеза). У самцов и самок ФСГ способствует развитию соответственно сперматозоидов и яйцеклеток (2, 3).

Однако в больших дозах эстрогены способны вызывать обратный эффект (вплоть до некротических явлений в почках и печени) (3). При повышении концентрации эстрадиола сверх нормы отмечено ухудшение сперматологических показателей (15). Излишняя масса тела быков-производителей может служить опосредованным сигналом об избыточном количестве эстрогенов, ухудшении количественных и качественных показателей спермы (16, 17).

А.И. Абилов с соавт. (11) выявили зависимость концентрации эстрадиола в крови быков-производителей от внешних факторов. При этом количественные показатели спермопродукции возрастали по мере снижения количества эстрадиола. Имеются данные относительно взаимосвязи между спермальными аутоантителами у быков-производителей и концентрацией эстрадиола (18).

С ростом продуктивности крупного рогатого скота изменяются гормональные процессы, интенсивность обмена веществ (19) и, как следствие, воспроизводительная способность. Поэтому при изучении гормонального статуса животного важно учитывать его продуктивный тип.

В связи с обсуждаемой ролью эстрогенов в спермопродукции также заслуживают внимания работы по оценке влияния фито-, ксеноэстрогенов и химически синтезированного эстрадиола на метаболизм и воспроизводительную функцию животных. Ксеноэстрогены обладают схожей с эндо-

генными эстрогенами активностью и имитируют их свойства, следовательно, воздействуют на синтез, секрецию, транспорт, метаболизм, связывание или выведение эндогенных гормонов, участвующих в регуляции гомеостаза, воспроизведения и развития (20). Имеются данные о негативном влиянии фитоэстрогенов на репродуктивную функцию. Так, показано, что фитоэстрогены могут подавлять синтез ЛГ и ФСГ у женщин (21) и половое поведение у животных (22).

В настоящей работе нами впервые определено содержание эстрадиола в крови быков-производителей в зависимости от сезона года и в связи с количественными и качественными показателями спермопродукции, в том числе изучено влияние статуса быка по эстрадиолу в день отбора семени на результативность искусственного осеменения.

Целью исследования была оценка влияния эндогенного эстрадиола в сыворотке крови на спермопродуктивность у быков-производителей и эффективность осеменения полученной спермой.

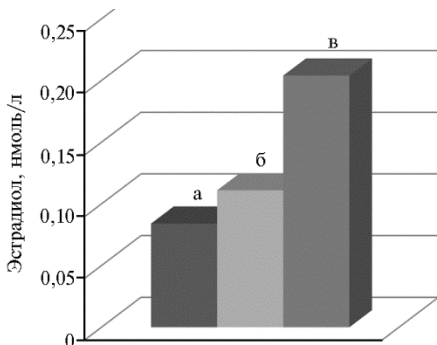
**Методика.** Для исследования в условиях «Головного центра по воспроизводству сельскохозяйственных животных» (2012-2014 годы) отобрали 18 быков-производителей голштинской породы в возрасте  $30 \pm 6$  мес. Животные получали рацион, сбалансированный по нормам Всероссийского НИИ животноводства (ВИЖ), их содержание и эксплуатация соответствовали установленным требованиям и стандартам (23).

Кровь для анализа брали из яремной вены через 1 ч после взятия семени. Сыворотку крови отделяли и сохраняли при  $-18...-20$  °С до исследования. Концентрацию эстрадиола в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-набора Иммуно-ФА-Э на оборудовании Униплан АФГ-01 (ЗАО «Пикон», Россия).

Охоту у коров (экспериментальное хозяйство «Кленово-Чегодаево», Новая Москва, 2012-2014 годы) определяли 2-кратно, оптимальный срок осеменения — визуально по рефлексу неподвижности и по результатам ректальных исследований с учетом зрелости фолликулов. Осеменяли 2 раза в одну охоту с интервалом 10-12 ч. Осеменение считали результативным при отсутствии повторной течки и на основании ректальных исследований на 45-60-е сут после последнего осеменения.

Достоверность различий между сравниваемыми вариантами оценивали по *t*-критерию Стьюдента. В таблицах приведены средние ( $\bar{X}$ ) и средние отклонения ( $\pm x$ ).

**Результаты.** При оценке концентрации эндогенного эстрадиола в сыворотке крови у быков-производителей голштинской породы в зависимости от сезона года оказалось (рис.), что весной (23 апреля 2012 года) в среднем по группе она составила  $0,084 \pm 0,070$  нмоль/л, а к осени (5 сентября и 18 октября 2012 года) — статистически достоверно увеличилась почти в 2,5 и достигла  $0,204 \pm 0,060$  нмоль/л ( $P < 0,001$ ).



**Концентрация эстрадиола в сыворотке крови голштинских быков-производителей по сезонам года:** а — весна, б — лето, в — осень ( $n = 18$ , возраст животных  $30 \pm 6$  мес;  $P < 0,001$ ; Московская обл., 2012 год).

На основании этих данных быков-производителей условно разделяли на группы по содержанию эстрадиола: I группа — низкое ( $0,100$  нмоль/л), II — среднее ( $0,101-0,200$  нмоль/л) и III — высокое ( $> 0,200$  нмоль/л).

Распределение всех животных по группам в зависимости от сезонных колебаний концентрации эстрадиола иллюстрирует таблица 1.

**1. Доля голштинских быков-производителей (в выборке, %), условно отнесенных к группам с разной концентрацией эстрадиола в сыворотке крови по сезонам года ( $X \pm x$ , выборка  $n = 18$ , возраст животных  $30 \pm 6$  мес; Московская обл., 2012 год)**

Дата исследования (число обследованных животных)	Концентрация эстрадиола, нмоль/л		
	до 0,100 (I группа)	0,101-0,200 (II группа)	> 0,200 (III группа)
23 апреля ( $n = 18$ )	77,80 $\pm$ 9,80	5,56 $\pm$ 5,40	16,80 $\pm$ 8,78
24 июля ( $n = 18$ )	61,11 $\pm$ 11,49	33,33 $\pm$ 11,10	5,56 $\pm$ 5,40
5 сентября и 18 октября ( $n = 35$ )	5,71 $\pm$ 3,92	48,57 $\pm$ 8,45	45,71 $\pm$ 8,42

Примечание. Различия между группами достоверны при  $P < 0,001$ .

Как оказалось, весной у большинства быков-производителей (в среднем у 77,80 % в выборке) концентрация эстрадиола при этом была минимальной (до 0,100 нмоль/л) и только в среднем у 16,80 % она достоверно ( $P < 0,001$ ) превышала максимальное значение (0,200 нмоль/л). В осенний период фиксировали достоверный рост ( $P < 0,001$ ) количества эстрадиола у 94,28 % быков.

**2. Количественные характеристики спермопродукции у голштинских быков-производителей, условно отнесенных к группам с разной концентрацией эстрадиола в сыворотке крови ( $X \pm x$ , выборка  $n = 18$ , возраст животных  $30 \pm 6$  мес; Московская обл., 2012-2014 годы)**

Показатель	Содержание эстрадиола, нмоль/л		
	до 0,100 (I группа)	0,101-0,200 (II группа)	> 0,200 (III группа)
Число быков, $n$	7	4	7
Эстрадиол, нмоль/л	0,06 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,03*	0,26 $\pm$ 0,04*
Объем эякулята, мл	4,6 $\pm$ 0,9	3,4 $\pm$ 1,1	3,5 $\pm$ 0,9
Содержание сперматозоидов в эякуляте, млрд/мл	1,3 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,2
Заморожено доз на 1 эякулят	170,6 $\pm$ 69,4	146,7 $\pm$ 37,4	112,1 $\pm$ 32,3

\* Различия с показателями в I группе достоверны при  $P < 0,001$ .

Определение количественных характеристик спермопродукции у быков-производителей показало (табл. 2), что с достоверным ( $P < 0,001$ ) ростом концентрации эстрадиола в сыворотке крови по сравнению с показателями в I группе количественные характеристики спермы снижались и, как следствие, уменьшался выход качественных доз семени в расчете на один эякулят и общее число качественных доз (примерно на 50 %), а также объем эякулята (на 31 %). На наш взгляд, это связано с тем обстоятельством, что при гиперэстрогенизации организма самцов возрастает концентрация тестостерон-эстрадиолсвязывающего глобулина, который блокирует функцию свободного тестостерона и снижает количество зрелых сперматозоидов.

При оценке оплодотворяющей способности семени быков-производителей разделили на группы в зависимости от концентрации эстрадиола в день взятия спермы (осень 2013 года) — с показателем 0,240-0,320 (минимальный); 0,321-0,360 (средний) и > 0,361 нмоль/л. Оценивали стельность от первого осеменения (коровы, которые были осеменены первый раз после отела) и от одного осеменения (независимо от кратности прихода в охоту). Как следует из представленных данных (табл. 3), чем ниже было содержание эндогенного эстрадиола в сыворотке крови быков-производителей в день получения спермы, тем эффективнее оказалось осеменение. При минимальной из зарегистрированных в этом опыте концентрации эстрадиола у быков (0,240-0,320 нмоль/л) результативность одного осеменения их спермой была наибольшей (62,03 $\pm$ 3,86 %), тогда как в слу-

чае максимальной эстрогенизации — самой низкой (45,45 %). Аналогичные данные получили и по первому осеменению. В обоих вариантах различия с минимальными показателями были достоверны при  $P < 0,05$ .

### 3. Результат осеменения коров спермой голштинских быков-производителей с разной концентрацией эстрадиола в сыворотке крови в день взятия семени ( $\bar{X} \pm x$ , возраст быков $30 \pm 6$ мес; экспериментальное хозяйство «Кленово-Чегодаево», Новая Москва, 2013-2014 годы)

Концентрация эстрадиола, нмоль/л	Число коров								
	осемененных		стельных						
	всего	впервые	от одного осеменения			от первого осеменения			
всего			%	к контролю, %	всего	%	к контролю, %		
0,240-0,320 (контроль)	79	52	49	62,03±3,86			31	59,62±4,81	
0,321-0,360	91	59	46	50,55±3,71	-11,98*		25	42,37±4,55	-17,25*
> 0,361	44	29	20	45,45±5,31	-16,58*		9	31,03±6,07	-28,59*
Всего	214	140	115	53,74±2,41	-8,29		65	46,43±2,98	-13,19*

\* Различия с показателями в контроле достоверны при  $P < 0,05$ .

Вероятная причина наблюдаемого нами варьирования количества эндогенного эстрадиола в крови быков-производителей в зависимости от сезона года — неодинаковая реакция гипоталамуса на поступающие сигналы. Вследствие этого в некоторых случаях может возникать дефицит глобулина, связывающего половые гормоны, и повышаться концентрация ЛГ и ФСГ, в результате чего проявляется первичная и вторичная тестикулярная недостаточность, способная привести к резкому изменению концентрации эстрадиола в крови (19). Полученные нами данные согласуются с результатами, показывающими, что гиперэстрогенизация повышает количество тестостерон-эстрадиолсвязывающего глобулина, а это, в свою очередь, снижает функцию свободного тестостерона и ведет к ухудшению сперматологических показателей (15), в том числе снижает половую активность и количество сперматозоидов в эякуляте. Рост концентрации эстрадиола в сыворотке крови может также служить указанием на начавшееся жировое перерождение печени (особенно при концентратном типе кормления быка-производителя).

Таким образом, количество эндогенного эстрадиола в сыворотке крови быков-производителей достоверно ( $P < 0,001$ ) варьирует в зависимости от сезона года, что влияет на спермопродуктивность ( $P < 0,001$ ) и результативность осеменения ( $P < 0,05$ ). Низкий уровень эстрадиола положительно сказывается на количественных показателях спермопродукции: объем эякулята увеличивается в среднем на 31 %, выход качественных доз — на 52 %. Доля эффективных осеменений коров (наступление стельности от одного или от первого осеменения) обратно пропорциональна концентрации эстрадиола в крови быков-производителей в день взятия спермы. Эти данные могут быть использованы в качестве дополнительного теста при прогнозировании результатов искусственного осеменения.

*<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский НИИ животноводства  
им. академика Л.К. Эрнста,*

142132 Россия, Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы;

*<sup>2</sup>ОАО «Головной центр по воспроизводству  
сельскохозяйственных животных»,*

142143 Россия, Московская обл., Подольский р-н, пос. Быково,

ул. Центральная, 3,  
e-mail: komnina@list.ru

*Попутила в редакцию  
13 мая 2016 года*

# COUNT AND EFFECTIVENESS OF ARTIFICIAL INSEMINATION

A.I. Abilov<sup>1</sup>, G.V. Eskin<sup>1</sup>, N.A. Kombarova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>L.K. Ernst All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, Federal Agency of Scientific Organizations, pos. Dubrovitsy, Podolsk Region, Moscow Province, 142132 Russia;

<sup>2</sup>Head Center for Reproduction of Farm Animals OAO, 3, ul. Tsentralnaya, pos. Bykovo, Podolsk Region, Moscow Province, 142143 Russia, e-mail komnina@list.ru

Received May 13, 2016

doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.830eng

## Abstract

Wide use of artificial insemination necessitates a deeper understanding of how hormones and immune system influence on semen production in sires. With this regard, the role of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in spermatogenesis is under consideration. Blood testosterone and estradiol levels are related and depend on a testosterone-estradiol binding globulin function. We first examined seasonal effects of blood estradiol levels as a reproduction marker in Holstein bull sires and showed the relationship between the blood estradiol concentration, semen fertilizing ability, semen volume, and semen concentration which, in turn, impact on the results of artificial insemination. Estradiol level in Holstein sires aged 30±6 months ( $n = 18$ ) was assayed using Immuno-FA-E ELISA kit and a Uniplan equipment (ZAO Pikon, Russia). The effectiveness of artificial insemination was tested in 214 cows. We showed that in the bulls the blood estradiol level varied significantly depending on a season ( $P < 0.001$ ). In spring, the lowest (0.100 nmol/l) estradiol level detected in 78 % of the bulls was mostly characteristic, and only in 17 % of the bulls estradiol was beyond 0.200 nmol/l ( $P < 0.001$ ). At autumn, blood estradiol concentration increased in 94 % bulls ( $P < 0.001$ ). When estradiol level rises two times and more, a 31 % decrease in semen volume per ejaculation is observed (i.e. 3.4 ml vs 4.6 ml) which results in about 50 % decrease in semen dose number (112 vs 171). When low blood estradiol on the day of semen collecting, a 12-17 % success rate occurred in cows after a single insemination ( $P < 0.05$ ), and 17-29 % heifers became pregnant to first insemination ( $P < 0.001$ ). Thus the blood estradiol in bulls additionally indicates a fertilizing ability of the semen and can be used to improve effectiveness of artificial insemination technique.

Keywords: estradiol, bull sires, seasonal changes, semen indices, success rate of insemination.

## REFERENCES

1. Ernst L.K., Subbotin A.D. *Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Rol' i znachenie metoda iskusstvennogo osemneniya sel'skokhozyaistvennykh zhitovnykh v progrese zhitovnovodstva XX-XXI vekov»* [Proc. Int. Conf. «Artificial insemination and progress in animal husbandry in XX-XXI»]. Dubrovitsy, 2004: 10-26 (in Russ.).
2. Milovanov V.K. *Biologiya vosproizvedeniya i iskusstvennogo osemneniya zhitovnykh* [Biology of animal reproduction and artificial insemination]. Moscow, 1962 (in Russ.).
3. Aliev A.A. *Obmen veshchestv u zhvachnykh zhitovnykh* [Metabolism in ruminants]. Moscow, 1997 (in Russ.).
4. Kumanov P., Nandipati K., Tomova A., Agarwal A. Inhibin B is a better marker of spermatogenesis than other hormones in the evaluation of male factor infertility. *Fertil. Steril.*, 2006, 86: 332-338.
5. Sverdloff R., Bkhasin Sh. V knige: *Endokrinologiya* /Pod redaktsiei N. Lavina [In: Endocrinology. N. Lavin (ed.)]. Moscow, 1999: 369-409.
6. Browder L. *Developmental biology*. Philadelphia, Saunders, 1980: 146-231.
7. *Biology of fertilization. V. 3. The fertilization response of the egg*. C.B. Metz, A. Monroy (eds.). Academic Press, Orlando, FL, 1985: 1-44.
8. Mymrin V.S., Khalturina L.V., Shkuratova I.A., Ryaposova M.V. *Mochnoe i myasnoe skotovodstvo*, 2012, 4: 7-9 (in Russ.).
9. Anderson M. Relationship between GnRH-induced sperm motility and fertility in Ayrshire bulls. *Animal Reprod. Sci.*, 1992, 27(2): 107-111.
10. Chacur M.G.M., Mizusaki K.T., Gabriel Filho L.R.A., Oba E., Ramos A.A. Seasonal effects on semen and testosterone in Zebu and Taurine bulls. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2013, 41: pub. 1110.
11. Abilov A.I., Kombarova N.A., Mityashova O.S. *Materialy X Konferentsii molodykh uchenykh s mezhdunarodnym uchastiem «Sovremennye dostizheniya i problemy biotekhnologii sel'skokhozyaistvennykh zhitovnykh — BioTekhZH-2015»* [Proc. X Int. Young Scientists Conf. «Recent advances and challenges in farm animals' biotechnology — BioTechAnimals-2015]. Dubrovitsy, 2015: 182-192 (in Russ.).
12. Amerkhanov Kh.A., Abilov A.I., Eskin G.V., Kombarova N.A., Turbi-

- na I.S., Fedorova E.V., Varennikov M.V., Gusev I.V. Concentration of testosterone and cholesterol in blood serum of servicing bulls depending on their type of productivity, age and the season. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2014, 2: 59-66 (doi: 10.15389/agrobiol.2014.2.59rus) (in Russ.).
13. Reznikov A.G., Varga S.V. *Antiandrogeny [Anti-androgens]*. Moscow, 1988 (in Russ.).
  14. Reznikov A.G. *Polovye gormony i differentsiatsiya mozga [Sexual hormones and brain differentiation]*. Kiev, 1982 (in Russ.).
  15. Gutorova N.V., Osadchuk L.V., Kleshov M.A., Kuznetsova N.N., Osadchuk A.V. *Problemy reproduksii*, 2010, 6: 89-93 (in Russ.).
  16. Fejes I., Koloszar S., Zavaczki Z., Daru J., Szollosi J., Pal A. Effect of body weight on testosterone, estradiol ratio in oligozoospermic patients. *Arch. Androl.*, 2006, 52: 97-102.
  17. Qin D.D., Yuan W., Zhou W.J., Cui Y., Wu J., Gao E. Do reproductive hormones explain the association between body mass index and semen quality? *Asian J. Androl.*, 2007, 9: 827-834.
  18. Abilov A.I., Amerkhanov Kh.A., Eskin G.V., Fedorova E.V., Zhavoronkova N.V., Kombarova N.A., Varennikov M.V. *Zootekhnika*, 2013, 11: 9-11 (in Russ.).
  19. Smirnova E.V., Nezhdanov A.G., Retsky M.I., Bratchenko E.V., Pappin N.E., Stepanov A.V., Shushlebin V.I., Chusova G.G. The metabolic profile of late pregnant cows of various ethological activity types. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2014, 2: 67-71 (doi: 10.15389/agrobiol.2014.2.67rus) (in Russ.).
  20. Diamanti-Kandarakis E., Bourguignon J.P., Giudice L.C., Hauser R., Prins G.S., Soto A.M., Zoeller R.T., Gore A.C. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr. Rev.*, 2009, 30(4): 293-342 (doi: 10.1210/er.2009-0002).
  21. Hooper L., Ryder J.J., Kurzer M.S., Lampe J.W., Messina M.J., Phipps W.R., Cassidy A. Effects of soy protein and isoflavones on circulating hormone concentrations in pre- and post-menopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update*, 2009, 15: 423-440.
  22. Patisaul H.B., Jefferson W. The pros and cons of phytoestrogens. *Front. Neuroendocrin.*, 2010, 31(4): 400-419.
  23. *Natsional'naya tekhnologiya zamorazhivaniya i ispol'zovaniya spermy plemennykh bykov-proizvoditelei /Pod redaktsiei N.M. Reshetnikovoi, A.I. Abilova [National Technique for freezing and usage of sperm from bull sires. N.M. Reshetnikova, A.I. Abilov (eds.)]*. Moscow, 2008 (in Russ.).