

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛЬЦИЯ В ШЕРСТИ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕРМЫ

И.И. Слепцов, кандидат экономических наук, научный сотрудник

С.А. Мирошников, доктор биологических наук, профессор

А.Н. Фролов, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Оренбург, Россия

E-mail: forleh@mail.ru

Ключевые слова: голштинская порода, быки-производители, шерсть, элементный состав, кальций, сперма.

Реферат. Химические элементы, являясь структурными компонентами тела, влияют на физиологические процессы и функции организма, рост, продуктивные и репродуктивные качества, резистентность и др. В связи с этим целью настоящего исследования являлась оценка влияния различных концентраций кальция в шерсти быков-производителей голштинской породы на качественные характеристики спермы. Исследования проведены в условиях Ленинградской и Вологодской областей на быках-производителях голштинской породы в возрасте 3–5 лет ($n = 40$). Концентрацию кальция в шерсти определяли методами атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии (АЭС–ИСП и МС–ИСП). По результатам этого анализа и сопоставления с ранее разработанными референсными интервалами нами было сформировано 4 группы быков-производителей: 1-я – уровень концентрации кальция меньше 25-го перцентиля, 2-я и 4-я – в границах 25–75-го перцентилей (физиологическая норма 1597–2926 мг/кг) и 3-я – больше 75-го перцентиля. По результатам такого распределения концентрация кальция в шерсти животных 2-й группы была выше на 75,9 % по сравнению с 1-й, в свою очередь, особи 4-й группы превосходили 3-ю на 27,9 %. По результатам оценки качественных характеристик спермы установлено, что в группе быков-производителей с уровнем кальция в границах ранее разработанных референсных интервалов была выше концентрация сперматозоидов на 15,3 % а их активность – на 0,17 балла в свежей сперме по сравнению с группой со сниженным его уровнем (ниже 25-го перцентиля). Высокое содержание кальция (выше 75-го перцентиля) в шерсти способствовало снижению концентрации сперматозоидов на 9,0 % по сравнению с нормальными его значениями. Таким образом, концентрация кальция, оцененная по уровню ее в шерсти, влияет на концентрацию и активность сперматозоидов. Необходимо проводить систематическую его оценку для повышения качественных характеристик спермы.

EVALUATION OF THE EFFECT OF CALCIUM CONCENTRATION IN THE WOOL OF SIRES ON SEMEN QUALITY CHARACTERISTICS

I.I. Sleptsov, PhD in Economic Sciences, Researcher

S.A. Miroshnikov, Doctor of Biological Sciences, Professor

A.N. Frolov, Doctor of Biological Sciences, Leading researcher

Federal Scientific Center for Biological Systems and Agricultural Technologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

E-mail: forleh@mail.ru

Keywords: Holstein breed, sires, wool, elemental composition, calcium, sperm.

Abstract. Chemical elements, as structural components of the body, influence physiological processes and functions of the organism, growth, productive and reproductive traits, resistance and others. In this regard, the present study aimed to evaluate the effect of different calcium concentrations in the wool of Holstein sires on the semen quality characteristics. The studies were conducted in conditions of Leningrad and Vologda regions on Holstein sires, 3–5 years old ($n=40$). Calcium concentration in wool was determined by atomic emission and mass spectrometry (AES–ICP and MS–ICP). According to the results of this analysis and comparison with previously developed reference intervals, we formed four groups of sires: I – level of Ca concentration less than 25th percentile, II and IV – within 25–75th percentile (physiological norm: 1597–2926 mg/kg) and III – more than 75th percentile. As a result of this distribution, the Ca concentration in the wool of animals of Group II was higher by 75.9 % compared to Group I; in turn, individuals of Group IV exceeded Group III – by 27.9 %.

According to the results of semen quality characteristics evaluation, it was found that in the group of sires with Ca level within the previously developed reference intervals, the concentration of spermatozoa was higher by 15.3 % and their activity – by 0.17 points in fresh semen in comparison with the group with its reduced level (below the 25th percentile). High Ca content (above the 75th percentile) in wool contributed to a 9.0% decrease in the concentration of spermatozoa compared to its average values. Thus, the calcium concentration, assessed by its level in the fur, affects the concentration and activity of sperm. It is necessary to evaluate it to improve the quality characteristics of sperm systematically.

Минеральные вещества оказывают большое влияние на репродуктивную функцию животных. Это связано с тем, что химические элементы являются структурными компонентами тела и играют жизненно важную роль в деятельности ферментов и гормонов, входящих в состав жидкостей и тканей организма. Дефицит, дисбаланс и токсичность некоторых химических элементов приводят к нарушениям воспроизводительной функции животных [1, 2].

Одним из важных химических элементов, влияющих на качественные характеристики спермы, является кальций, концентрация его в организме связана с емкостью, капациацией [3], подвижностью и созреванием сперматозоидов, [4, 5], криозащитным потенциалом [6], акросомной реакцией [7].

По мере развития науки о кормлении сельскохозяйственных животных становится очевидным, что дальнейшим этапом развития этого направления станет контроль и оптимизация поступления минеральных веществ с помощью методов оценки их метаболизма в организме, включающих определение элементного состава в отдельных биосубстратах, одним из которых, широко используемых для этих целей, является семенная жидкость [8]. Однако оценка концентрации кальция в данном биосубстрате показывает свою неинформативность и приводит к противоречивым данным. Так, одни исследователи связывают низкие концентрации ионизированного кальция со снижением подвижности сперматозоидов [9, 10], другие не находят никакой связи [11–13], третьи отмечают отрицательную связь [14].

В этой связи перспективным неинвазивным биосубстратом может стать шерсть [15] концентрация кальция в которой коррелирует с количественными характеристиками спермы [16–18].

Целью данного исследования являлась оценка влияния различных концентраций кальция в шерсти быков–производителей голштинской породы на качественные характеристики спермы.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены в условиях Ленинградской и Вологодской областей на быках–производителях голштинской породы, от которых получали сперму ($n = 40$). Возраст быков в период отбора образцов составлял 3–5 лет. Все рационы кормления для быков–производителей соответствовали рекомендуемым нормам для данной половозрастной группы, живой массы, нагрузки [19].

Сбор образцов спермы для анализа производился однократно – утром. Оцениваемые показатели: объем эякулята (мл); концентрация сперматозоидов (млрд/мл); активность сперматозоидов (баллов); количество замороженных доз (шт.) в среднем за месяц, предшествующий отбору шерсти; количество брака.

Отбор образцов шерсти у быков–производителей проводили сразу же после отбора спермы при помощи беспроводной машинки Heiniger Saphir (Швейцария). Элементный состав шерсти определяли методами атомно–эмиссионной и масс–спектрометрии (АЭС–ИСП и МС–ИСП) в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва (Registration Certificate of ISO 9001: 2000, Number 4017 – 5.04.06) по 25 показателям (Al, As, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, I, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Se, Si, Sn, Hg, Sr, V, Zn).

Результаты определения концентраций химических элементов в шерсти сравнивались с ранее установленными референсными интервалами, 25–75-й процентиля которых составляли 1597–2926 мг/кг [20]. По результатам этого анализа нами был обнаружен как дефицит, так и избыток кальция в исследуемый выборке быков–производителей. На основании этого нами были сформированы 4 опытные группы (табл. 1).

Таблица 1

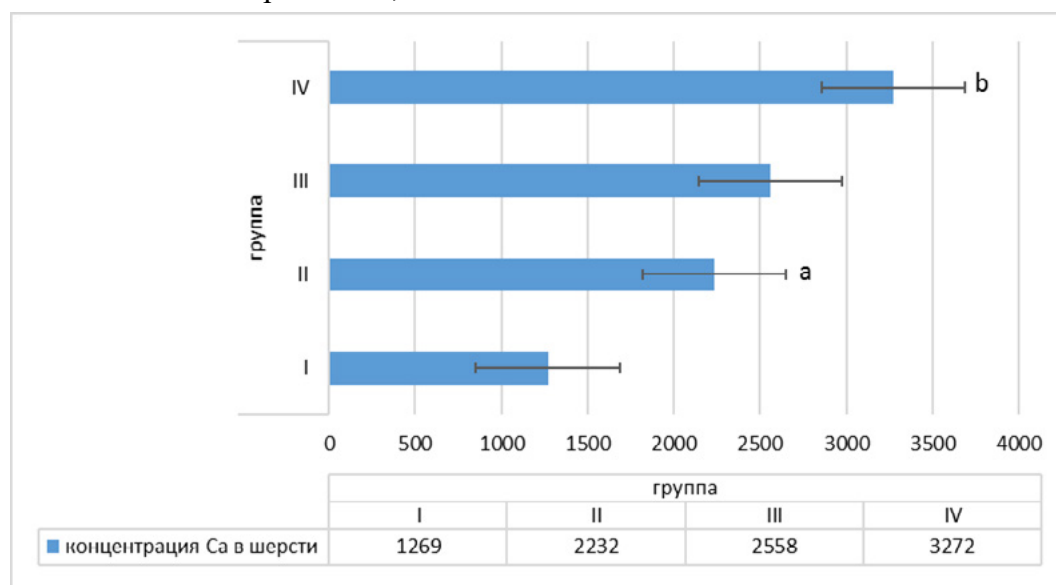
Схема исследования
Research scheme

Регион разведения	Группа	Биосубстрат	Концентрация кальция	Количество голов
Вологодская область	1-я	Шерсть	Меньше нормы (<25-го перцентилья, <1597 мг/кг)	4
	2-я	Шерсть	В норме (25–75-й перцентилья, 1597–2926 мг/кг)	16
Ленинградская область	3-я	Шерсть	Выше нормы (>75-го перцентилья, > 2926 мг/кг)	9
	4-я	Шерсть	В норме (25–75-й перцентилья, 1597–2926 мг/кг)	11

Все статистические анализы выполнены с использованием программ Microsoft Excel 2016 (формирование базы данных) и Statistica 10.0. (обработка данных). Во всех процедурах статистического анализа рассчитывали достигнутый уровень значимости (P), при этом критический уровень значимости в данном исследовании принимался меньшим или равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фактические значения концентраций кальция в шерсти быков-производителей в разрезе сформированных групп представлены на рис. 1.



Примечание. а – разница достоверна при $P \leq 0,01$ (1-я группа относительно 2-й); b – разница достоверна при $P \leq 0,01$ (3-я группа относительно 4-й)

Note. a – the difference is significant at $P \leq 0.01$ (group 1 relative to group 2); b – the difference is significant at $P \leq 0.01$ (group 3 close to group 4)

Рис. 1. Концентрация кальция в шерсти быков-производителей подопытных групп
Calcium concentration in the wool of experimental bulls

В шерсти быков-производителей 2-й группы концентрация кальция была выше на 75,9 % ($P \leq 0,01$) по сравнению с 1-й, в свою очередь, особи 4-й группы превосходили 3-ю на 27,9 % ($P \leq 0,01$).

Анализ качественных характеристик спермы в разрезе сформированных групп выявил значительные различия по некоторым из них (рис. 2, 3).

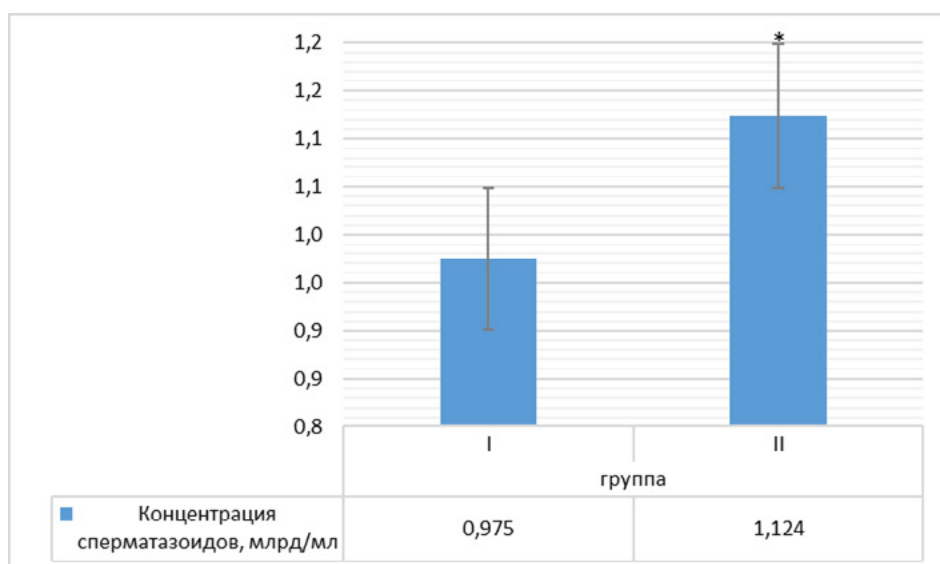


Рис. 2. Концентрация сперматозоидов в свежей сперме быков-производителей голштинской породы, разводимых в Вологодской области, в зависимости от уровня кальция в шерсти

Concentration of sperm in fresh semen of Holstein bulls bred in the Vologda region, depending on the level of calcium in the wool

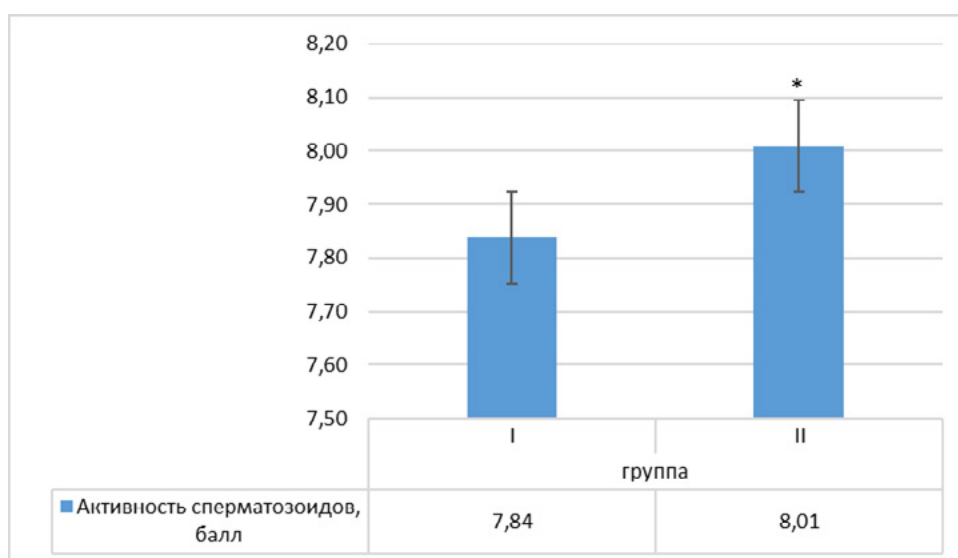


Рис. 3. Активность сперматозоидов в свежей сперме быков-производителей голштинской породы, разводимых в Вологодской области, в зависимости уровня кальция в шерсти

Sperm activity in fresh semen of Holstein bulls bred in the Vologda region, depending on the level of calcium in wool

Так, в группе быков-производителей с уровнем кальция в границах предложенных референсных интервалов концентрация сперматозоидов была выше на 15,3 % ($P \leq 0,001$), а активность – на 0,17 балла ($P \leq 0,05$) в свежей сперме по сравнению с группой со сниженным его уровнем (ниже 25-го перцентиля). Таким образом, низкие концентрации кальция в шерсти быков-производителей ассоциируются со сниженной активностью и концентрацией сперматозоидов в свежей сперме. Выявленная в

нашем исследовании связь концентрации и активности сперматозоидов с уровнем кальция согласуется с ранее полученными результатами на человеке [21]. Это связано с тем, что кальций важен для механизма сокращения хвостика (жгутика) сперматозоида, а изменения концентрации ионов кальция связаны с различными аспектами дисфункции сперматозоидов, такими как их подвижность [22].

В дальнейшем нами изучено влияние высоких концентраций кальция (рис. 4).

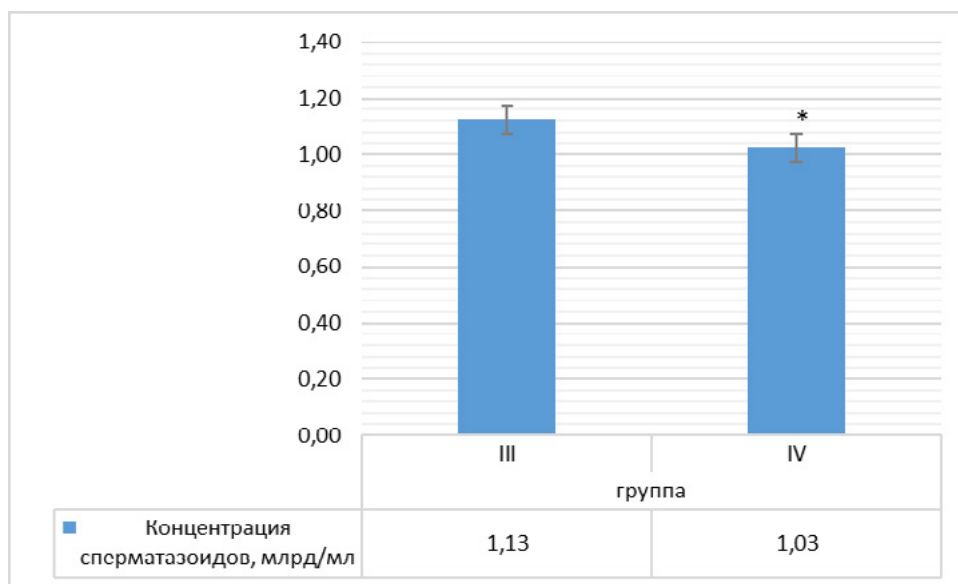


Рис. 4. Концентрация сперматозоидов в свежей сперме быков–производителей голштинской породы, разводимых в Ленинградской области, в зависимости уровня кальция в шерсти

Concentration of sperm in fresh semen of Holstein bulls bred in the Leningrad region, depending on the level of calcium in wool

В нашем исследовании единственным показателем, на который повлияло высокое содержание кальция, явилась концентрация сперматозоидов, которая снизилась в 4-й группе на 8,98 % ($P \leq 0,05$). Подтверждением полученных нами данных может являться исследование на родительском поголовье бройлеров, которое показало негативное влияние повышенных концентраций кальция в кормлении петушков рационами кур–несушек, которое приводит к сокращению периода оплодотворения и снижению концентрации сперматозоидов и функции яичек [23].

ВЫВОДЫ

1. Метод определения концентрации кальция в шерсти быков–производителей является

важным инструментом оценки качественных характеристик спермы.

2. Определение концентрации кальция в шерсти и сопоставление с референсными интервалами позволяет выявлять животных с дефицитом или избытком этого элемента и в дальнейшем проводить соответствующую коррекцию рациона.

3. Концентрация кальция в шерсти ниже 1597 мг/кг ассоциирована со снижением концентрации сперматозоидов на 15,3 % и их активности – на 0,2 балла.

Работа выполнена в соответствии с планом НИР за 2019–2023 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ 0761–2019–0006).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Mineral nutrition and reproductive performance of the dairy animals: a review* / M.C. Sharma, C. Joshi, G. Das, K. Hussain // *Indian J. Anim. Sci.* – 2007. – Vol. 77. – P. 599–608.
2. *Стрижкова М.В., Коновалова Т.В., Короткевич О.С.* Содержание макроэлементов в сыворотке крови животных черно–пестрой породы // *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет)*. – 2017. – № 4 (45). – С. 75–82.
3. *Fraser L.R.* Minimum and maximum extracellular Ca^{2+} requirements during mouse sperm capacitation and fertilization in vitro // *J Reprod Fertil.* – 1987. – Sep, Vol. 81 (1). – P. 77–89. – DOI: 10.1530/jrf.0.0810077.

4. *The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men* / W.Y. Wong, G. Flik, P.M. Groenen [et al.] // *Reprod Toxicol.* – 2001. – Mar–Apr, Vol. 15 (2). – P. 131–136. – DOI: 10.1016/S0890–6238(01)00113–7.
5. *Marzec–Wróblewska U., Kamiński P., Lakota P.* Influence of chemical elements on mammalian spermatozoa. *Folia Biol (Praha).* – 2012. – Vol. 58 (1). – P. 7–15.
6. *Role of cholesterol, calcium, and mitochondrial activity in the susceptibility for cryodamage after a cycle of freezing and thawing* / M. Meseguer, N. Garrido, J.A. Martínez–Conejero [et al.] // *Fertil Steril.* – 2004. – Mar, Vol. 81 (3). – P. 588–594. – DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.09.035.
7. *An overview on role of some trace elements in human reproductive health, sperm function and fertilization process* / M. Mirnamniha, F. Faroughi, E. Tahmasbpour [et al.] // *Rev Environ Health.* – 2019. – Dec 18, Vol. 34 (4). – P. 339–348. – DOI: 10.1515/reveh–2019–0008.
8. *Determination of trace elements in bovine semen samples by inductively coupled plasma mass spectrometry and data mining techniques for identification of bovine class* / G.F. Aguiar, B.L. Batista, J.L. Rodrigues [et al.] // *J Dairy Sci.* – 2012. – Dec, Vol. 95 (12). – P. 7066–7073. – DOI: 10.3168/jds.2012–5515.
9. *Banjoko S.O., Adeseolu F.O.* Seminal Plasma pH, Inorganic Phosphate, Total and Ionized Calcium Concentrations In The Assessment of Human Spermatozoa Function // *J Clin Diagn Res.* – 2013. – Nov, Vol. 7 (11). – P. 2483–2486. – DOI: 10.7860/JCDR/2013/6194.3585.
10. *Seminal concentrations of total and ionized calcium from men with normal and decreased motility* / S.D. Prien, C.D. Lox, R.H. Messer, F.D. DeLeon // *Fertil Steril.* – 1990. – Jul, Vol. 54 (1). – P. 171–172.
11. *Thomas P., Meizel S.* An influx of extracellular calcium is required for initiation of the human sperm acrosome reaction induced by human follicular fluid // *Gamete Res.* – 1988. – Aug, Vol. 20 (4). – P. 397–411. – DOI: 10.1002/mrd.1120200402.
12. *Zinc, magnesium and calcium in human seminal fluid: relations to other semen parameters and fertility* / M.B. Sørensen, I.A. Bergdahl, N.H. Hjellund [et al.] // *Mol Hum Reprod.* – 1999. – Apr, Vol. 5 (4). – P. 331–337. – DOI: 10.1093/molehr/5.4.331.
13. *The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men* / W.Y. Wong, G. Flik, P.M.W. Groenen [et al.] // *Reproductive Toxicology.* – 2001. – Vol. 15 (2). – P. 131–136. – [https://doi.org/10.1016/S0890–6238\(01\)00113–7](https://doi.org/10.1016/S0890–6238(01)00113–7).
14. *Elemental composition of human semen is associated with motility and genomic sperm defects among older men* / T.E. Schmid, P.G. Grant, F. Marchetti [et al.] // *Hum Reprod.* – 2013. – Jan, Vol. 28 (1). – P. 274–282. – DOI: 10.1093/humrep/des321.
15. *Relationship between trace elements status in mane hair and atrial fibrillation in horse* / K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba [et al.] // *J Vet Med Sci.* – 2006. – Jul, Vol. 68 (7). – P. 769–771. – DOI: 10.1292/jvms.68.769.
16. *Фролов А.Н., Завьялов О.А., Харламов А.В.* Взаимосвязь уровня концентраций химических элементов в шерсти с количественными и качественными характеристиками семени у быков производителей голштинской породы // *Аграрный научный журнал.* – 2022. – № 11. – С. 91–95. – DOI: <https://doi.org/10.28983/asj.y2022i11pp91–95>.
17. *Качество спермы быков красных пород ОАО племпредприятие «Барнаульское» и устойчивость её к криоконсервации* / А.И. Желтиков, Т.В. Коновалова, О.И. Себежко, В.В. Ильин, П.Н. Пальчиков, О.С. Короткевич, В.Л. Петухов, М.В. Стрижкова, О.А. Зайко, В.Г. Маренков, К.Н. Нарожных // *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет).* – 2021. – № 1 (58). – С. 92–100. – DOI: 10.31677/2072–6724–2021–58–1–92–100.
18. *Оценка быков–производителей черно–пестрой породы по качеству спермопродукции* / А.И. Желтиков, О.С. Короткевич, В.В. Вастьянов, Е.В. Камалдинов // *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет).* – 2010. – № 1 (13). – С. 26–29.
19. *Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: справ. пособие.* – 3–е изд., перераб. и доп. / под ред. А.П. Калашникова, В.И. Фисинина, В.В. Щеглова, Н.И. Клейменова. – М., 2003. – 456 с.
20. *Фролов А.Н., Завьялов О.А., Харламов А.В.* Референсные интервалы концентраций химических элементов в шерсти быков–производителей голштинской породы // *Труды Кубанского государственного аграрного университета.* – 2022. – № 100. – С. 286–292. – DOI: 10.21515/1999–1703–100–286–292.

21. Banjoko S.O., Adeseolu F.O. Seminal Plasma pH, Inorganic Phosphate, Total and Ionized Calcium Concentrations In The Assessment of Human Spermatozoa Function // *J Clin Diagn Res.* – 2013. – Nov, Vol. 7 (11). – P. 2483–2486. – DOI: 10.7860/JCDR/2013/6194.3585.
22. The rate of change in Ca(2+) concentration controls sperm chemotaxis / L. Alvarez, L. Dai, B.M. Friedrich [et al.] // *J Cell Biol.* – 2012. – Mar 5, Vol. 196 (5). – P. 653–563. – DOI: 10.1083/jcb.201106096.
23. Tyler N.C., Namntu M., Ciacciariello M. Research Note: The effect of crude protein and calcium intake on fertility of male broiler breeders // *Poult Sci.* – 2021. – Sep, Vol. 100 (9). – P. 101284. – DOI: 10.1016/j.psj.2021.101284.

REFERENCES

1. Sharma M.C., Joshi C., Das G., Hussain K., Mineral nutrition and reproductive performance of the dairy animals: a review, *Indian J. Anim. Sci.*, 2007, Vol. 77, pp. 599–608.
2. Strizhkova M.V., Kononova T.V., Korotkevich O.S., *Vestnik NGAU (Novosibirskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet)*, 2017, No. 4 (45), pp. 75–82. (In Russ.)
3. Fraser LR., Minimum and maximum extracellular Ca²⁺ requirements during mouse sperm capacitation and fertilization in vitro, *J Reprod Fertil*, 1987, Sep, Vol. 81 (1), pp. 77–89, DOI: 10.1530/jrf.0.0810077.
4. Wong W.Y., Flik G., Groenen P.M., Swinkels D.W., Thomas C.M., Copius–Peereboom J.H., Merkus H.M., Steegers–Theunissen R.P., The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men, *Reprod Toxicol.*, 2001, Mar–Apr, Vol. 15 (2), pp. 131–136, DOI: 10.1016/S0890–6238(01)00113–7.
5. Marzec–Wróblewska U., Kamiński P., Lakota P., Influence of chemical elements on mammalian spermatozoa, *Folia Biol (Praha)*, 2012, Vol. 58 (1), pp. 7–15.
6. Meseguer M., Garrido N., Martínez–Conejero J.A., Simón C., Pellicer A., Remohí J., Role of cholesterol, calcium, and mitochondrial activity in the susceptibility for cryodamage after a cycle of freezing and thawing, *Fertil Steril.*, 2004, Mar, Vol. 81 (3), pp. 588–594, DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.09.035.
7. Mirnamniha M., Faroughi F., Tahmasbpour E., Ebrahimi P., Beigi Harchegani A., An overview on role of some trace elements in human reproductive health, sperm function and fertilization process, *Rev Environ Health*, 2019, Dec. 18, Vol. 34 (4), pp. 339–348, DOI: 10.1515/reveh–2019–0008.
8. Aguiar G.F., Batista B.L., Rodrigues J.L., Silva L.R., Campiglia A.D., Barbosa R.M., Barbosa F.Jr., Determination of trace elements in bovine semen samples by inductively coupled plasma mass spectrometry and data mining techniques for identification of bovine class, *J Dairy Sci*, 2012, Dec, Vol. 95 (12), pp. 7066–7073, DOI: 10.3168/jds.2012–5515.
9. Banjoko S.O., Adeseolu F.O., Seminal Plasma pH, Inorganic Phosphate, Total and Ionized Calcium Concentrations In The Assessment of Human Spermatozoa Function, *J Clin Diagn Res*, 2013, Nov, Vol. 7 (11), pp. 2483–2486, DOI: 10.7860/JCDR/2013/6194.3585.
10. Prien S.D., Lox C.D., Messer R.H., DeLeon F.D., Seminal concentrations of total and ionized calcium from men with normal and decreased motility, *Fertil Steril*, 1990, Jul, Vol. 54 (1), pp. 171–172.
11. Thomas P., Meizel S., An influx of extracellular calcium is required for initiation of the human sperm acrosome reaction induced by human follicular fluid, *Gamete Res*, 1988, Aug, Vol. 20 (4), pp. 397–411, DOI: 10.1002/mrd.1120200402.
12. Sørensen M.B., Bergdahl I.A., Hjellund N.H., Bonde J.P., Stoltenberg M., Ernst E., Zinc, magnesium and calcium in human seminal fluid: relations to other semen parameters and fertility, *Mol Hum Reprod*, 1999, Apr, Vol. 5 (4), pp. 331–337, DOI: 10.1093/molehr/5.4.331.
13. Wong W.Y., Flik G., Groenen P.M.W. et al., The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men, *Reproductive Toxicology*, 2001, Vol. 15 (2), pp. 131–136, [https://doi.org/10.1016/S0890–6238\(01\)00113–7](https://doi.org/10.1016/S0890–6238(01)00113–7).
14. Schmid T.E., Grant P.G., Marchetti F., Weldon R.H., Eskenazi B., Wyrobek A.J., Elemental composition of human semen is associated with motility and genomic sperm defects among older men, *Hum Reprod*, 2013, Jan, Vol. 28 (1), pp. 274–282, DOI: 10.1093/humrep/des321.
15. Asano K., Suzuki K., Chiba M., Sera K., Asano R., Sakai T., Relationship between trace elements status in mane hair and atrial fibrillation in horse, *J Vet Med Sci*, 2006, Jul, Vol. 68 (7), pp. 769–771, DOI: 10.1292/jvms.68.769.

16. Frolov A.N., Zavyalov O.A., Kharlamov A.V., *Agricultural Scientific Journal*, No. 11, pp. 91–95, DOI: <https://doi.org/10.28983/asj.y2022i11pp91-95>. (In Russ.)
17. Zheltikov A.I., Konovalova T.V., Sebezhko O.I., Ilyin V.V., Palchikov P.N., Korotkevich O.S., Petukhov V.L., Strizhkova M.V., Zaiko O. .A., Marenkov V.G., Narozhnykh K.N., *Vestnik NGAU (Novosibirskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet)*, 2021, No. 1 (58), pp. 92–100, DOI: 10.31677/2072-6724-2021-58-1-92-100. (In Russ.)
18. Zheltikov A.I., Korotkevich O.S., Vastyanov V.V., Kamaldinov E.V., *Vestnik NGAU (Novosibirskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet)*, 2010, No. 1 (13), pp. 26–29. (In Russ.)
19. *Norms and rations for feeding farm animals. Reference manual. 3rd edition revised and expanded* (Norms and rations for feeding farm animals), Ed. A.P. Kalashnikova, V.I. Fisina, V.V. Shcheglova, N.I. Kleimenova, Moscow, 2003, 456 p.
20. Frolov A.N., Zavyalov O.A., Kharlamov A.V., *Proceedings of the Kuban State Agrarian University*, 2022, No. 100, pp. 286–292, DOI: 10.21515/1999-1703-100-286-292. (In Russ.)
21. Banjoko S.O., Adeseolu F.O., Seminal Plasma pH, Inorganic Phosphate, Total and Ionized Calcium Concentrations In The Assessment of Human Spermatozoa Function, *J Clin Diagn Res*, 2013, Nov, Vol. 7 (11), pp. 2483–2486, DOI: 10.7860/JCDR/2013/6194.3585.
22. Alvarez L., Dai L., Friedrich B.M., Kashikar N.D., Gregor I., Pascal R., Kaupp U.B., The rate of change in Ca(2+) concentration controls sperm chemotaxis, *J Cell Biol.*, 2012, Mar 5, Vol. 196 (5), pp. 653–663, DOI: 10.1083/jcb.201106096.
23. Tyler N.C., Namntu M., Ciacciariello M., Research Note: The effect of crude protein and calcium intake on fertility of male broiler breeders, *Poult Sci*, 2021, Sep, Vol. 100 (9), pp. 101284, DOI: 10.1016/j.psj.2021.101284.