

УДК 619:636.082.454

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРТИЛЬНОСТИ РЕМОНТНЫХ СВИНОК КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ

Федотов С. В., д.в.н., проф.каф. диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА им. К.И. Скрябина, Лебедев Н.В., к.в.н., нач. отдела анализа принципов эквивалентности при экспорте животных и животноводческой продукции ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов», Корязова М. А., студ. 5 курса ФВМ ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА им. К.И. Скрябина.

Ключевые слова: ант имюллеров гормон, ремонт ные свинки, бесплодие, многоплодие, половые гормоны, фертильность. **Key words:** anti-muller hormon, gilts, infertility, multiple pregnancy, sex hormones, fertility.



РЕФЕРАТ

Основными показателями хорошей продуктивности поголовья свиноматок на свиномкомплексах являются: высокий процент оплодотворяемости, многоплодие и жизнеспособность поросят. На данный момент каких-либо универсальных методов для определения фертильности в свиноводстве не применяется. О репродуктивном потенциале каждой свинки судят уже по факту, после первого-второго опороса. Именно поэтому, опосредованное суждение о будущей продуктивности свинок через определение гормонов в период полового созревания, может позволить значительно снизить экономические потери на содержание низкопродуктивных свинок.

С целью установления гормонального статуса ремонтных свинок мы определили в сыворотке крови концентрации половых гормонов (E2) и Мюллер-ингибирующего гормона.

Проведённые нами исследования уровня антимюллера гормона (АМГ) с помощью иммуноферментного анализа в сыворотки крови доказали возможность ранней оценки фертильности у свинок. Этот метод позволит провести раннюю выбраковку низкопродуктивных ремонтных свинок из маточного поголовья.

Дальнейшая разработка методов определения фертильности свинок, а также ведение тестирования на уровень антимюллера гормона методом ИФА в обязательную гинекологическую диспансеризацию ремонтных свинок на свиноводческих предприятиях является экономически целесообразным и эффективным.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день свиноводство – это одна из самых быстроразвивающихся отраслей сельского хозяйства. Этому способствуют высокие темпы прироста поголовья и набора живой массы поросят: каждые 4,5 месяца одна свиноматка в среднем приносит 12-15 поросят и к 6 месяцам каждый поросенок уже достигает массы для убоя. Этому способствуют фи-

зиологические особенности свиней, которых нет ни у одного другого вида продуктивных животных: многоплодие, полицикличность и быстрый прирост живой массы у поросят. Однако и содержание свиней обходится очень дорого – в день один 3х месячный поросенок съедает до 1 кг корма в день. Именно поэтому содержание низкопродуктивных свинок крайне неэффективно и экономически невыгодно [1,3].

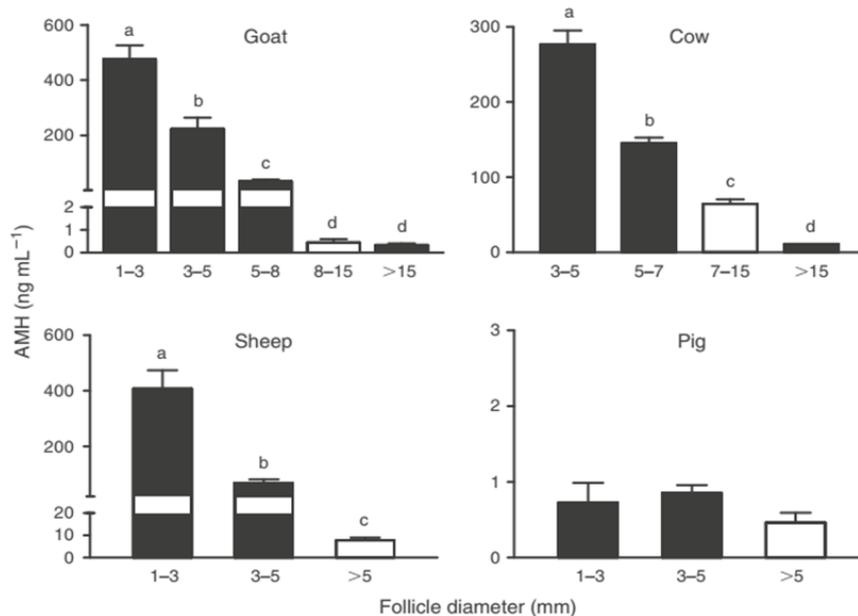


Рисунок 1 – Уровень АМГ в фолликулах свиней, коров, овец и коз (по Монпиаux D, Drouilhet L и др., 2012).

В настоящее время на комплексах по всему миру о продуктивности свинок судят дефакто: после второго-третьего опороса каждой свинки ее оценивают по нескольким показателям и решают, выгодно ли дальше ее оставлять в разведении или выгоднее сразу отправить на убой. К таким показателям относятся многоплодность, количество живых поросят в одном помете, живая масса поросят при рождении и живая масса поросят при отъеме. Также о фертильности каждой отдельно взятой свинки можно судить по таким признакам как: своевременный приход в охоту после опороса, хорошая оплодотворяемость и приживаемость эмбрионов [2].

На данный момент на комплексах по всему миру применяются самые простые методы диагностики: о приходе в охоту и начале супоросности смотрят по наличию рефлекса неподвижности, для определения приживаемости эмбрионов применяют УЗИ. Все остальные показатели смотрят по факту [1].

Однако все эти методы требуют времени и все это время на содержание каждой свинки расходуется огомная сумма. Крайне целесообразно проводить выбраковку потенциально низкопродуктивных свинок еще в возрасте полового созревания и не ждать опоросов. Однако простыми клиническими методами исследования это определить невозможно – требуется лабораторная диагностика фертильности каждой свинки.

Именно поэтому целью своей работы мы ставим исследование методов определения фертильности, возможность из применения для свиней и адаптации на комплексах. В частности, определение уровня антимюллера гормона (АМГ). Антимюллеров гормон является одним из основных индикаторов нормального функционирования половых желёз [4].

В организме самки АМГ продуцируется гранулезными клетками растущих фолликулов от стадии первичных, достигая максимума в малых антральных и практически исчезает в фолликулах, приближенных к графову пузырьку [5, 10].

Антимюллеров гормон является маркером яичникового резерва. Биологические эффекты АМГ реализуются при действии на серин/треониновые рецепторы двух типов: АМГР-1, АМГР-П. Результатом взаимодействия с рецепторами служит образование сложного рецепторного комплекса, оказывающего свое влияние после соединения с ядром клетки [8].

По данным некоторых авторов [9], антимюллеров гормон или Мюллерингибирующий гормон способен снижать чувствительность гранулезных клеток яичников к фолликулостимулирующему гормону, задерживая фолликулы на стадии малых антральных.

Однако свиньи – это многоплодные животные, и многие авторы расходятся во мнениях о функциях этого гормона в организме свиней и говорят о том, что у свиней он изучен в наименьшей степени.

По данным Monniaux D, Drouilhet L и др., [6] уровень АМГ в фолликулах свиней разных стадий значительно не различается в отличии от других видов самок животных (рис.1).

Однако последние исследования указывают на то, что основная разница в действии АМГ в организме заключается в том, что он после овуляции сохраняется в той же концентрации что и до, что позволяет предположить, что именно это обеспечивает последующее единовременное созревание нескольких фолликулов сразу, и, как следствие, многоплодность [7].

Таким образом, применение теста на уровень анти-мюллерова гормона у свиней может показать даже большую эффективность, чем у других видов животных и, соответственно, принести значительную экономическую выгоду.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные работы проводились на кафедре диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» и в ООО «АПХ Мираторг» Брянской области.

ООО «АПХ Мираторг» многопрофильное сельскохозяйственное предприятие. Свиноводство представлено 28 комплексами, расположенными в разных областях, на которых содержатся от 35000 и более голов свиней, в зависимости от технологического цикла каждого из комплексов. Племенная база свиноматок составляет 130000 голов.

Основные технологические процессы на молочных фермах полностью автоматизированы. Свиньям комбикорм подается в определенные часы кормления при помощи системы «Драй Рапид». Это надёжная система сухого кормления для участков доращивания (DR 1500 с мощностью подачи 1500 кг/час) и остальных участков (DR 850 с мощностью подачи 850 кг/час).

Объектами исследований были клинически здоровые ремонтные свинки, рожденные в 2018-2019 гг. Для определения концентрации Антимюллерова гормона (АМГ) использовали сыворотки крови свинок. Отбор крови производился из яремной вены вакуум-содержащими системами BD Vacuutainer. Целая кровь была отобрана нами на комплексе. Центрифугировали при 2500 оборотах, в течение 10 минут, далее алиquotировали сыворотку крови и замораживали для доставки образцов на кафедру. Дальнейшие исследования проводились методом иммуноферментного анализа.

Для постановки ИФА мы применяли тест «Ansh Labs porcine АМН» производства США. Перед постановкой реакции мы внесли по 50 мкл исследуемой сыворотки в лунки планшета, 50 мкл калибраторов А-Г и 50 мкл буфера для анализа АМГ.

В течение 120 минут при комнатной температуре на шейкере встряхивали со скоростью 600-800 об/мин. Затем промыли 5 раз раствором А и добавили 100 мкл RTU-конъюгата антители-биотин АМГ в каждую лунку.

В течение 60 минут при комнатной температуре на шейкере встряхивали со скоростью 600-800 об/мин, после промыли и внесли 100 мкл АМГ стрептавидин-энзим конъюгата-RTU.

Быстро встряхивали (600-800 об/мин) на шейкере в течение 30 минут и промывали. В экспериментальные лунки добавляли 100 мкл раствора хромогена ТМВ, избегая попадания солнечных лучей и встряхивали при 600-800 об/мин на шейкере с орбитальными микропланшетами, в течение 10-12 мин при комнатной температуре.

Вносили 100 мкл раствора для остановки реакции в каждую лунку, используя пипетку с повторителем. Затем помещали планшет в считывающее устройство для ИФА, установленное на длину волны 450 нм.

По калибровочной кривой определяли концентрацию Антимюллерова гормона (АМГ) в сыворотки крови телок-фримартин.

Половые гормоны в сыворотки крови экспериментальных телок определяли в ИФА с использованием тест-систем российского производства.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее ранняя диагностика низкопродуктивных свинок является основной задачей при работе с маточным поголовьем на комплексе. Своевременное определение фертильности у ремонтного молодняка с последующей выбраковкой проблемных свинок будет способствовать

снижению прямых экономических потерь при разведении свиноматок.

На производстве свиноматки были разделены нами на три группы: свинки, которые были получены от свиноматок с многоплодной супоросностью (далее многоплодные), свинки, которые были получены от свиноматок со средним количеством поросят (далее среднеплодные или условно контрольная группа) и свинки, которые были получены от свиноматок с малым количеством поросят (далее малоплодные). Все свинки на момент исследования были клинически здоровы, в возрасте 4-4,5 месяцев, жмт 120-150 кг, ни разу не приходившие в охоту.

С целью установления гормонального статуса свинок мы определили в сыворотке крови концентрации половых гормонов Эстрадиол Е2 и Мюллерингибирующего гормона.

При проведении эксперимента воспроизводительная способность свинок оценивалась по общепринятым показателям: день прихода в охоту, оплодотворяемость, многоплодие и сохранность поросят к двухмесячному возрасту.

Изучение уровня антимюллерова гормона показало, что его количество в организме свинки имеет обратную корреляцию с ее репродуктивными показателями.

Таблица 1
Концентрация половых гормонов в сыворотке крови трех исследуемых групп свинок (n=10)

Группа	Уровень гормонов	
	Антимюллеров гормон, (нг/мл)	Эстрадиол Е2, пМ/л
Малоплодные	9±1,3	102,3±1,86
Многоплодные	2,1±1,35	81±1,7
Среднеплодные	6,6±2,12	95,3±1,3

Таблица 2

Возраст в днях, когда была выявлена первая охота у различных групп ремонтных свинок

Группа	n	Выявлена первая охота, дни					
		140-150	150-160	160-170	170-180	180-190	190-200
1 Малопродуктивные с высоким уровнем АМГ (9,0±1,3нг/мл)	10	-	-	2	7	1	-
2 Многопродуктивные с низким уровнем АМГ (2,1±1,35нг/мл)	10	1	2	4	3	-	-
3 Среднепродуктивные со средним уровнем АМГ (6,6±2,12нг/мл)	10	-	1	3	4	2	-

Таблица 3

Воспроизводительная способность свинок разных групп по итогам первого опороса

Группа	Оплодотворяемость, %	Многоплодие	Сохранность к 2х месячному возрасту, %
1 Малопродуктивные с высоким уровнем АМГ (9,0±1,3нг/мл)	59,8	7,4±0,6	79,3
2 Многопродуктивные с низким уровнем АМГ (2,1±1,35нг/мл)	72,1	14,5±0,5	75,6
3 Среднепродуктивные со средним уровнем АМГ (6,6±2,12нг/мл)	63,6	10,5±0,5	80,8

Так, при достаточно высоких концентрациях АМГ (9,0±1,3нг/мл) в сыворотке крови фертильность была признана достаточно низкой. Однако по итогу проведения исследований, все свинки были

оплодотворены с дальнейшей супоросностью.

В то время как у свинок с низким уровнем АМГ в сыворотке некоторые показатели были значительно ниже. Вы-

явлена некоторая корреляция между уровнем АМГ и днем первого прихода в охоту, однако это не будет являться клинически значимым показателем. Клинически значимой корреляции между уровнем АМГ и сохранностью поросят к двухмесячному возрасту не выявлено. Однако значительной оказалась разница показателей процентом оплодотворяемости и многоплодием у свинок с низким и с высоким уровнем АМГ.

ВЫВОДЫ

Определение уровня АМГ в сыворотке крови ремонтных свинок может применяться наряду с другими диагностическими тестами для отбора ремонтного молодняка, тем самым повышая репродуктивные характеристики стада.

В процессе исследований обнаружена взаимосвязь между уровнем АМГ в сыворотке крови исследуемых животных и их способностью к плодотворному осеменению. Предлагаемый метод позволяет обнаруживать низкопродуктивных свинок даже в первые месяцы их жизни, что может существенно уменьшить затраты на содержание проблемных животных.

Также исследования показали, что при уровне Е2 более 100 пМл репродуктивные способности свинок значительно снижаются, что подтверждается данными других авторов [11]. Это может быть прямым показанием к проведению дальнейшего обследования свинки на предмет наличия патологий яичников.

Безусловно, необходимы дальнейшие более подробные исследования в области гормонального статуса фертильных свинок, поскольку доподлинно функции некоторых гормонов у них не совсем ясны.

Таким образом, введение тестирования на уровень антимюллерова гормона методом ИФА в обязательную гинекологическую диспансеризацию свинок на свиноводческих предприятиях является целесообразным и эффективным.

Determining the fertility of juvenile gilts of large white breed.

Fedotov S. V.-doctor of Veterinary Sciences, professor of the Department of disease diagnosis, therapy, obstetrics and animal reproduction of Moscow state

Academy of veterinary medicine and biotechnology- MBA named after K.I. Scriabin, Lebedev Nikita Viktorovich, candidate of veterinary sciences, Head of the Department for the Analysis of Equivalence Principles in the Export of Animals and Livestock Products of «Russian state center for the quality and standardization of medicines for animals and feed», Koryazova M.A., 5th year student of the Faculty of Veterinary Medicine of Moscow state Academy of veterinary medicine and biotechnology- MBA named after K.I. Scriabin.

ABSTRACT

Main indicators of good productivity of number of sows on pig farms are: high percent of successful insemination, number of fetuses and vitality of piglets. Now there is no universal methods of diagnostics of fertility that can be used on practice. The reproductive potential of each pig is judged after the fact, after the first or second farrowing. That is why, an indirect judgment about the future productivity of gilts through the determination of hormones during puberty can significantly reduce the economic losses for the maintenance of low-producing gilts.

In order to establish the hormonal status of gilts, we determined the concentration of sex hormones (E2) and Müller-inhibiting hormone in the blood serum.

Our studies of the level of anti-Müllerian hormone (AMH) using enzyme-linked immunosorbent assay in blood serum proved the possibility of early assessment of fertility in pigs. This method will allow early culling of low-yielding gilts from the broodstock.

Further development of methods for determining the fertility of pigs, as well as conducting testing for the level of anti-Müllerian hormone by ELISA in the mandatory gynecological clinical examination of gilts at pig breeding enterprises is economically feasible and effective.

ЛИТЕРАТУРА

1.Авдеенко В. С., Молчанов А.В., Рыжов А.С. Биотехнологические методы управления процессами репродукции свиней. – Из-во: Саратовский государ-

- ственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова (Саратов). – 2018. – 304 с.
2. Федотов С.В., Авдеенко В. С., Лебедев Н. В. Особенности репродукции свиней после перенесенного респираторно-репродуктивного синдрома. – Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2020. – №2. – С. 48-54.
3. Федотов С.В., Борунова С.М., Рамидонов А.Б. Эффективность saniрующих препаратов, применяемых в биотехнике репродукции животных. – Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 6. – С.116-119.
4. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary / A.L. Durlinger, M.J. Gruijters, P. Kramer [et al.] // *Endocrinology*. - 2002. - Vol. 143. - P. 1076-1084.
5. Granulosa cell production of anti-Mullerian hormone is increased in polycystic ovaries / L. Pellatt, L. Hanna, M. Brincat [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* – 2007. – Vol. 92. – P. 240-245.
6. Monniaux, D., Drouilhet, L., Rico, C., Estienne, A., Jarrier, P., Touzé, J.-L., Sapa, J., Phocas, F., Dupont, J., Dalbiès-Tran, R., Fabre, S. Regulation of antiMüllerian hormone production in domestic animals. – *Reprod. Fertil. Dev.* – 2012. – Vol.25. – P. 1–16.
7. Anthony Estienne, Peggy Jarrier, Christophe Staub, Eric Venturi, Yves Le Vern, Nathalie Clemente, Danielle Monniaux, Philippe Monget. Anti-Müllerian hormone production in the ovary: a comparative study in bovine and porcine granulosa cells, *Biology of Reproduction*. – 2020. – Vol. 103. – Issue 3. — P. 572–582.
8. Metformin reduces serum Mullerian-inhibiting substance levels in women with polycystic ovary syndrome after protracted treatment / R. Fleming, L. Harborne, D.T. MacLaughlin [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2005. – Vol. 83. – P. 130-136.
9. Müllerian inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture / M. Grossman, S. Nakajima, M. Fallat, Y. Siow // *Fertility and Sterility*. – 2008. – Vol. 89. – P. 1364-1370.
10. Presence of anti-Müllerian hormone (AMH) during follicular development in the porcine ovary. / Fernanda R. C. L. Almeida, Natasja G. J. Costermans, Nicoline M. Soede, Annelies Bunschoten, Jaap Keijer, Bas Kemp, Katja J. Teerds. *PLOS ONE* | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197894> July 31, 2018
11. Serum Concentrations of AMH and E2 and Ovarian and Uterine Traits in Gilts/ Alicia Steel, Rebecca Z. Athorn and Christopher G. Grupen // *Animals*. – 2019. – Vol. 9. – P. 811- 826.