

INTENSIFICAZIONE DELL'EFFICIENZA RIPRODUTTIVA.
USO DEL TESTOSTERONE E DEL GnRH NELLA CONIGLIA.

Pizzi Flavia, Lucca C. e Crimella C.

Istituto di Zootecnica - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Milano - Via Celoria, 10 - 20133.

PREMESSA

La mancanza di una ciclicità estrale ben precisa e definita nella coniglia ha determinato, nella ricerca applicata a questa specie, un grande interesse per l'utilizzo di sostanze in grado di indurre l'ovulazione, così da migliorare l'efficienza riproduttiva delle femmine e contemporaneamente cicliz-
zare e standardizzare alcune operazioni la cui scadenza, il più delle volte, è determinata dal caso più che da una vera e propria pianificazione.

L'induzione ormonale dell'ovulazione con gonadotropine corioniche (Maertens 1980; Morin e coll. 1976) ha sempre avuto un grande limite nella marcato potere antigene di queste. Le reazioni anticorpali dell'animale sono, infatti, in grado di bloccare e neutralizzare tali sostanze anche dopo poche somministrazioni. Per queste ragioni alcuni autori (White e Edlund 1973; Ruffini e coll. 1978; Battaglini e coll. 1982) hanno pensato di utilizzare il GnRH sintetico (Gonadotrophin releasing Hormone) in grado di determinare sull'ipofisi il rilascio di LH e in minor misura di FSH; inoltre il GnRH sintetico, decapeptide a basso peso molecolare, dovrebbe determinare una minore risposta anticorpale.

Va anche ricordato che nella coniglia, animale a ciclo poliestrale continuo, contrariamente ad altre specie l'ovulazione è provocata dal coito, grazie a una scarica neuro-ormonale ipotalamo-ipofisaria a cui, tra l'altro, segue il picco di LH preovulatorio. Talvolta però la femmina non accetta il maschio ed anche quando ciò avviene lo stimolo può non essere sufficiente a provocare l'ovulazione.

Questa situazione, di riflesso, comporta negli allevamenti industriali perdite economiche notevoli, in particolare in quelli che adottano un ciclo riproduttivo estremamente intensificato.

Durante la fase estrale del ciclo è stato notato un aumento fisiologico del contenuto di testosterone nel sangue. Si è pensato allora di somministrare questo ormone per riprodurre la situazione fisiologica precedente l'ovulazione. E' noto infatti che l'incremento nel sangue di LH preovulatorio agisce sulle cellule della teca interna determinando in queste un aumento di

AMP_C che consentirà la conversione del colesterolo in testosterone, ottenendo, quale ultimo effetto, un aumento del tasso ematico di questo ormone che, unitamente agli estrogeni, determinerà le ben note manifestazioni estrali. Secondo alcuni studi (Armstrong e coll. 1978) il testosterone è in grado anche di bloccare l'evoluzione atresica dei follicoli, permettendo così lo sviluppo di un maggior numero di follicoli ovulatori. Riguardo la reazione anticorpale indotta dalla somministrazione di testosterone, gli stessi autori hanno studiato questo fenomeno in animali immunizzati attivamente contro questo ormone per undici settimane, ed hanno rilevato come l'aumento della concentrazione ematica di questo ormone, prima dell'ovulazione, possa comunque esplicare il suo effetto stimolante prima di essere neutralizzato dagli anticorpi.

Quanto riportato sopra, come anche una certa conoscenza delle problematiche dell'allevamento industriale cunicolo (Crimella, Carenzi 1980; Verga e coll. 1983; Crimella, Pizzi 1983; Crimella 1981) ha suggerito di provare e verificare le possibilità di miglioramento dell'efficienza riproduttiva mediante l'utilizzo del testosterone e del GnRH, usati sia da soli che congiunti.

MATERIALI E METODI

Per la seguente sperimentazione sono state utilizzate 36 femmine nullipare di razza 'Bianca di Nuova Zelanda' con peso medio di Kg. $3,359 \pm 0,375$ e 4 $\frac{1}{2}$ mesi di età. Gli animali sono stati mantenuti in ambiente climatizzato con fotoperiodo controllato di 16 h di luce su 24.

Una prima prova è stata effettuata nel mese di Luglio (T° media = $28 \pm 2^\circ\text{C}$; U.R. media 80%) e una seconda a Settembre (T° media = $22 \pm 1^\circ\text{C}$; U.R. media = 60%). La scelta del periodo estivo non è stata casuale, ma motivata dalla necessità di verificare la possibilità di intensificare l'efficienza riproduttiva proprio in un periodo in cui questa è più bassa (Lebas, Baron 1980). Le femmine sono state suddivise in 4 gruppi composti da 9 soggetti ciascuno, per ognuno dei quali sono stati previsti i seguenti trattamenti:

- 1° Gruppo: ml 0,5 di soluzione fisiologica somministrata sottocute 1 h prima dell'accoppiamento (effetto placebo)
- 2° Gruppo: ml 0,8 di soluzione oleosa di testosterone propionato pari a mg 10 di principio attivo per animale, somministrato sottocute 24 h prima dell'accoppiamento.

3° Gruppo: ml 0,8 di soluzione oleosa di testosterone propionato somministrato sottocute 24 h prima dell'accoppiamento e ml 0,2 di soluzione acquosa di gonadoliberina sintetica (GnRH sintetico) somministrato sottocute 1 h prima dell'accoppiamento.

4° Gruppo: ml 0,2 di soluzione acquosa di gonadoliberina sintetica somministrata sottocute 1 h prima dell'accoppiamento.

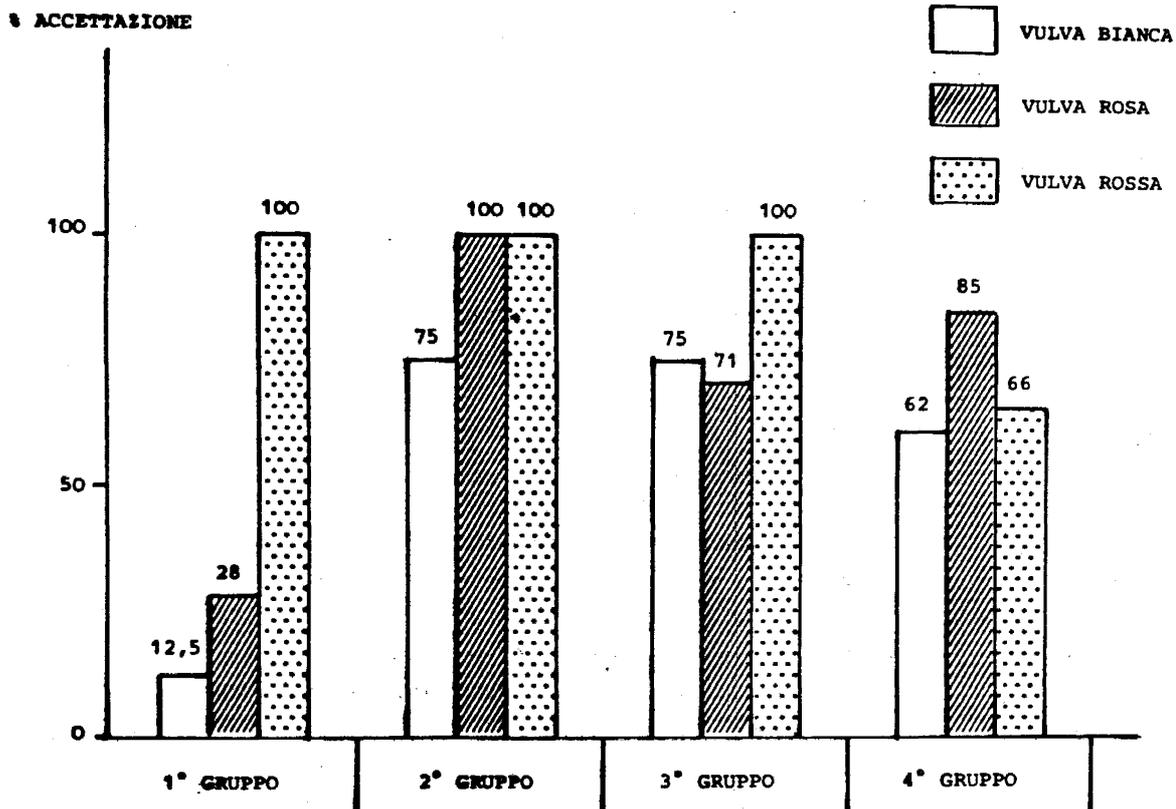
Le femmine sono state distribuite uniformemente all'interno di ciascun gruppo sperimentale in funzione del momento estrale, valutabile dall'intensità di colorazione della vulva. Questa classificazione per colore ha permesso di suddividere le coniglie utilizzate in tre categorie: Bianca - Rosa - Rossa. Infatti secondo alcuni autori (Romiti, Caprioli 1983) ad ognuna di queste classi corrisponde un differente stato funzionale delle ovaie: nelle femmine con vulva bianca, essi hanno rilevato ovaie "ferme" e con follicoli immaturi, quelle con vulva rosa e rossa presentavano invece follicoli in formazione e maturi.

La classificazione della vulva è stata effettuata, in questa sperimentazione, prima e dopo il trattamento, permettendo così di valutare macroscopicamente l'effetto del singolo trattamento sulla colorazione della vulva (Tab. 1). E' necessario precisare che sono stati fatti solo accoppiamenti naturali, di fatto si è evitata volutamente la pratica dell'accoppiamento forzato per avere una risposta il più possibile reale riguardo l'induzione del calore e quindi l'accettazione del maschio.

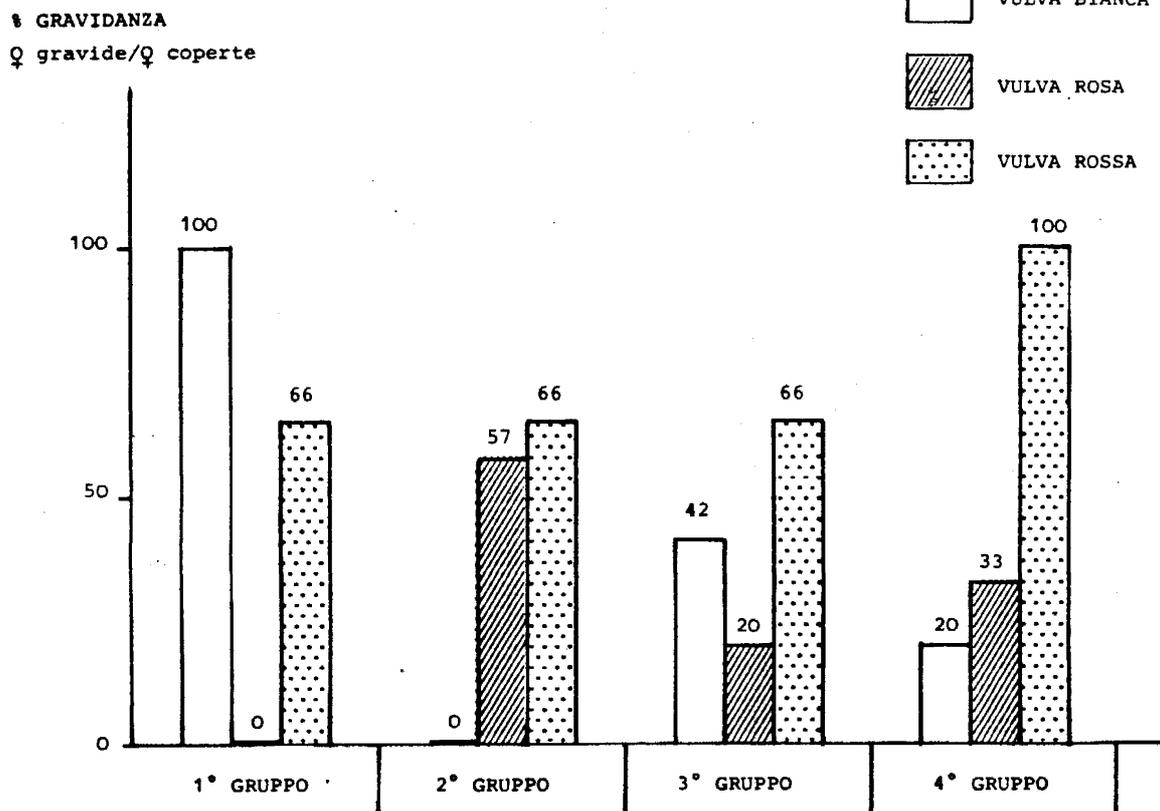
Nelle due prove, per ogni gruppo, sono stati rilevati i seguenti parametri:

- Percentuale di accettazione, intesa come numero di femmine che hanno accettato il maschio sul totale delle femmine trattate (Istogramma 1).
- Percentuale di gravidanza intesa come numero delle femmine che hanno partorito sul totale delle femmine che hanno accettato il maschio (Istogramma 2).
- Percentuale di gravidanza intesa come numero delle femmine che hanno partorito sul totale delle femmine utilizzate (Istogramma 3).
- Numero nati totali (nati vivi + nati morti) relativo al totale delle femmine accoppiate. Si è utilizzato questo parametro in quanto stima più precisa dell'efficienza di allevamento rispetto al numero medio di nati per parto normalmente utilizzato.

I dati raccolti sono stati sottoposti alle consuete analisi statistiche.



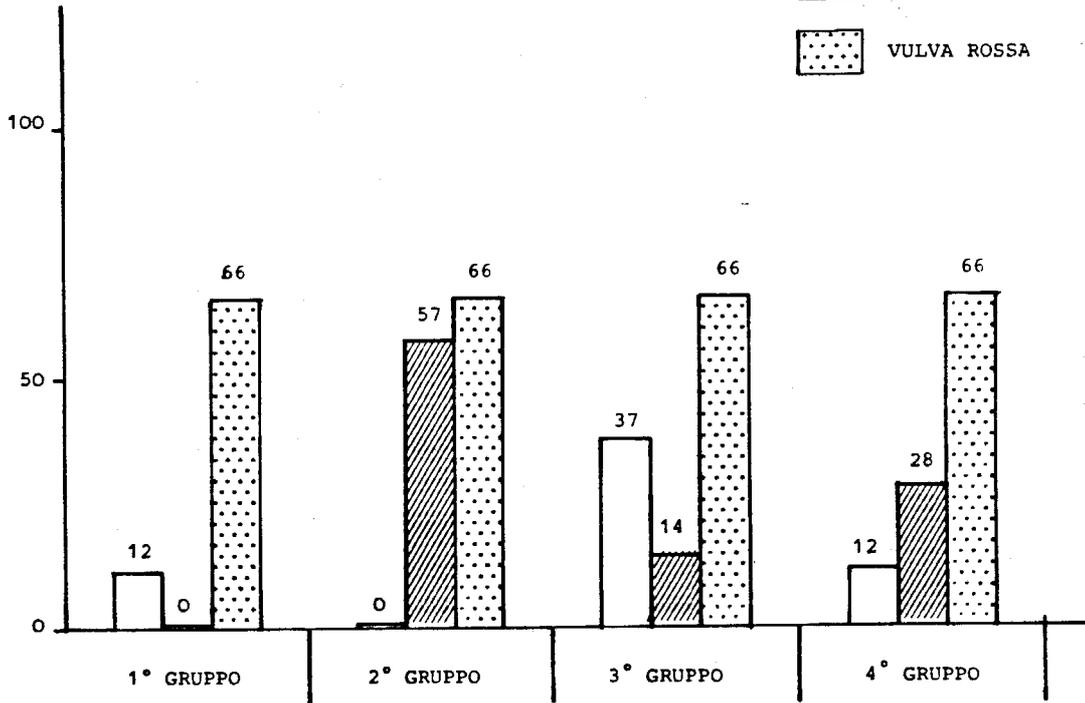
ISTOGRAMMA 1



ISTOGRAMMA 2

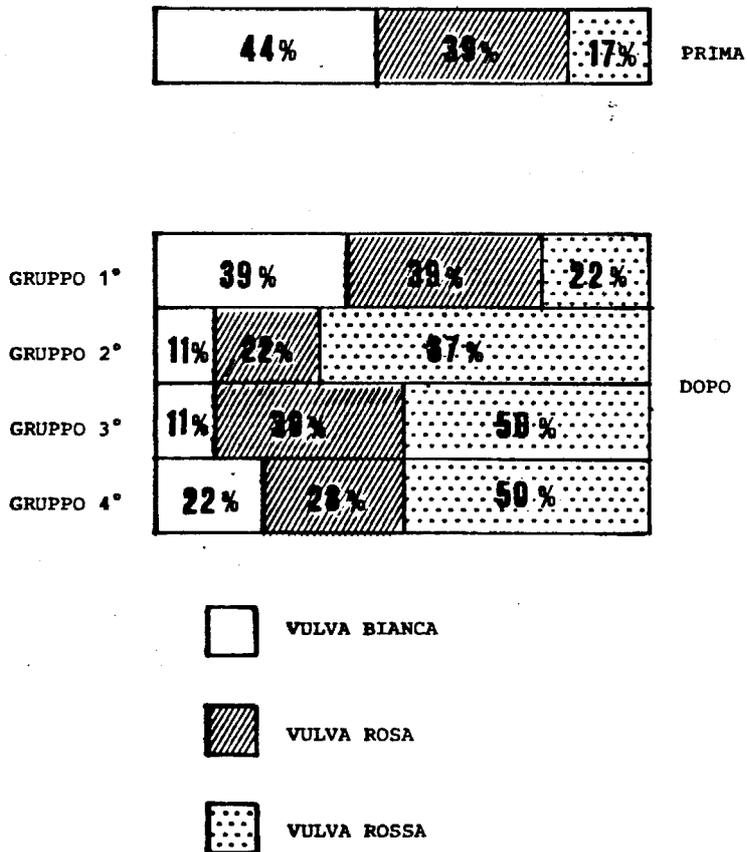
♀ GRAVIDANZA
 ♀ gravide/♀ totali

□ VULVA BIANCA
 ▨ VULVA ROSA
 ▩ VULVA ROSSA



ISTOGRAMMA 3

Tabella 1.



RISULTATI E DISCUSSIONE

La tabella N° 1 rappresenta la classificazione delle coniglie, suddivise per ogni singolo gruppo, in base alla colorazione della vulva secondo il sistema precedentemente illustrato. Risulta evidente che i trattamenti ormonali, sia singoli che associati, hanno determinato una diminuzione della percentuale di femmine in anaestro (vulva Bianca) ed un conseguente passaggio di queste nelle classi "Rosa" e "Rossa". Nel primo gruppo (soluzione fisiologica - effetto placebo) non si sono riscontrate differenze significative nel confronto tra prima e dopo il trattamento. Per quanto concerne il secondo gruppo (testosterone) è chiaramente visibile un aumento della percentuale di femmine in calore. Nel terzo gruppo (testosterone + GnRH) è importante rilevare che, nonostante si sia verificato un netto miglioramento rispetto a gruppo di controllo, non si è potuta riscontrare una azione sinergica tra le due sostanze. Nel quarto gruppo si è notata un'influenza positiva del GnRH. anche se, in questo caso, la percentuale di animali con vulva bianca è diminuita in minor misura rispetto ai due precedenti gruppi (22% vs 11%)(Tabella N°1)

Analizzando la percentuale di accettazione, come visibile nell'istogramma N° 1, il trattamento ormonale, in generale, ha migliorato questo parametro. Questo effetto è interessante in particolar modo nelle femmine che presentavano vulva bianca o rosa; questi animali, se non fossero stati trattati, avrebbero difficilmente accettato il maschio, come è constatabile nel primo gruppo dell'istogramma N° 1. La percentuale di accettazione del maschio, sottoposta ad analisi statistica del χ^2 secondo il metodo della Classificazione Gerarchica, mostra una differenza statisticamente significativa ($0,01 \geq P \geq 0,001$) tra i gruppi e in particolare tra il controllo e i gruppi trattati; all'interno di questi invece non si è potuta evidenziare alcuna differenza. Da una ulteriore analisi statistica è risultata non esistere una differenza statisticamente significativa nella risposta ai trattamenti eseguiti nei mesi di Luglio e Settembre all'interno di ogni gruppo.

Un altro parametro rilevato è stato quello relativo alla percentuale di gravidanza; questo dato può essere calcolato sia sul totale delle femmine coperte (Istogramma 2) che delle femmine trattate (Istogramma 3).

L'istogramma N° 3 permette di valutare l'effetto del trattamento ormonale sul totale delle coniglie comprendendo anche l'influenza che quest'ultimo ha avuto sull'accettazione del maschio.

Viceversa l'istogramma N° 2 mostra come i trattamenti sono riusciti ad influenzare l'instaurarsi della gravidanza indipendentemente dalla accettazione del maschio.

Questi dati, sottoposti ad analisi statistica, χ^2 con Classificazione Gerarchica, non hanno evidenziato differenze statisticamente significative tra i gruppi. Contrariamente a quanto rilevato per l'accettazione del maschio, in questo caso, l'influenza del mese è stata determinante. Nel mese di Luglio infatti, la bassa percentuale di concepimento è probabilmente attribuibile alla ridotta capacità fecondante dei maschi causata anche dall'alta temperatura ambientale; questa ipotesi può essere confortata dal fatto che solamente tre degli otto maschi utilizzati hanno avuto esiti riproduttivi positivi.

Per ultimo, nei riguardi del parametro numero di nati per femmina coperta, non si sono riscontrate differenze tra i trattamenti, situazione che lascerebbe pensare come il parametro "Numero nati totale per femmina coperta" non possa essere influenzato da questo tipo di proposta sperimentale.

CONCLUSIONI

La problematica relativa al miglioramento dell'efficienza riproduttiva si basa, come noto, anche su caratteri che riconoscono un'ampia interazione tra genotipo ed ambiente e chiaramente a favore di quest'ultimo. La dimensione di nidiata, alla nascita e allo svezzamento, l'attitudine materna in tesa come espressione di produzione latte sono, per esempio, parametri che possono venire fortemente influenzati dallo stesso allevatore. Sarebbe quindi che l'operatore zootecnico abbia notevoli possibilità per influire sul determinismo positivo dell'efficienza riproduttiva di allevamento.

In realtà se lo spazio di azione è ampio ed i settori su cui lavorare numerosi, sono gli strumenti con cui intervenire che spesso non trovano un riscontro di fattibilità concreta; nel ventaglio delle opportunità che si offrono all'allevatore, più preparato, nell'ambito di questa sperimentazione, interferendo sulla sfera ormonale, si sono verificate alcune possibilità per ottenere un miglioramento riproduttivo.

Nel dettaglio i risultati sembrano indicare, nell'uso del testosterone, una positiva possibilità per migliorare il livello di accettazione del maschio da parte delle femmine.

Sotto il profilo zootecnico e pertanto anche di organizzazione d'allevamento, questo fatto può rappresentare di per se stesso un concreto vantaggio quando si calcoli il tempo richiesto per ogni accoppiamento. Parallelamente al risparmio di tempo si offrirebbe la possibilità di avere gruppi omogenei

di fattrici, condizione che sarà indispensabile per poter applicare programmi di ciclizzazione (Facchin e coll. 1983, 1-2-3; Tardani e coll. 1974) in allevamento senza dover mantenere gruppi numerosi di femmine alternative. Una seconda possibilità era stata prevista nell'uso del GnRH, ma la casistica raccolta al pari di quanto suggerito dalla bibliografia specifica (Dubielza e coll. 1980), non dà informazione sufficientemente confortanti per indicare nell'uso di questa sostanza probabilità molto evidenti di successo riproduttivo. In particolare l'analisi statistica non ha messo in luce, almeno in questa ricerca, la superiorità di una delle proposte sperimentali. Va anche ricordato che, pur con i limiti dati dal campione utilizzato, le fattrici trattate con testosterone hanno dimostrato sì una "vis coeundi" con una buona accettazione del maschio loro proposto, ma questa situazione positiva non ha avuto un riscontro favorevole di gravidanze instaurate e portate a termine.

Come già accennato la lettura critica del dato riscontrato deve purtroppo confrontarsi con le dimensioni del campione studiato, situazione quest'ultima che però è puntualmente riscontrabile nelle analoghe sperimentazioni indicate dalla bibliografia specifica; è chiaro che le proposte sperimentali che si sono volute verificare possono offrire anche aspetti contrastanti specialmente per quanto attiene il corretto bilancio economico che interessa le programmazioni aziendali di questo tipo. Di fatto se si vuole intensificare il ritmo riproduttivo in funzione di una ottimizzazione dell'efficienza e se si reputa proponibile, poichè fattibile, una ciclizzazione rigida di allevamento occorre necessariamente disporre o di un numero di femmine notevolmente ampliato o di soggetti fortemente condizionati, e quindi standardizzati nel momento riproduttivo. La gestione della fattrici alternative, al momento attuale, sembra, pur con notevoli perplessità zoeconomiche, la più facilmente attuabile, ma non è escluso che lo strumento più idoneo per diminuire questo oneroso impegno organizzativo e gestionale non sia rappresentato dall'utilizzo oculato delle possibilità verificate anche da questa sperimentazione.

Si ringrazia vivamente la Prof. Ruffini Castrovilli e il Prof. Rigoni dell'Istituto di Zootecnica Generale - Facoltà di Agraria - Università di Milano, per la cortese e fattiva collaborazione.

BIBLIOGRAFIA

- 1 -- Armstrong R.W., Gauldie J. e Younglai (1978)
J. Endocrinology 79, 339.
- 2 - Battaglini M., Costantini F., Nordio Baldissera C., Ruffini Castrovillili C. (1982)
Riv. Coniglicoltura n. 12, 45.
- 3 - Crimella C., Carenzi C. (1980)
Atti X MIC Erba.
- 4 - Crimella C. (1981)
Incontro OPIZ XI MIC Erba.
- 5 - Crimella C., Pizzi F. (1983)
Atti MAV 83 Padova.
- 6 - Dubliel, A., Rokicki C., Samboski Z. (1980)
Medycyna Veterynaryjna 36 (7) 409.
- 7 - Facchin E., Trincia R., Murari R. (1983)
Selez. Suinav. inserto n. 93, n. 32, 29.8.1983.
- 8 - Facchin E., Verga - Rossi L., Murari R. (1983)
Selez. Suinav. inserto n. 92, n. 30/31, 1.8.1983.
- 9 - Facchin E., Turco G., Venturato F. (1983)
Selez. Suinav. inserto n. 90, n. 27, 11.7.1983.
- 10 - Lebas F. et Baron A. (1980)
Cuniculture n. 31, 15.
- 11 - Maertens L. (1980)
Congresso di Barcellona Vol. 1, 107.
- 12 - Morin X., Lemoine G., Coulmin J.P. (1976)
1^{er} Congrès International Cunicole Dijon Communication n.64.
- 13 - Romiti R., Caprioli M. (1983)
Riv. Coniglicoltura IX, 43.
- 14 - Ruffini Castrovilli C., Nordio Baldissera C., Monciardini R. (1978)
Riv. Coniglicoltura XV n. 8/9, 19.
- 15 - Tardani A., Lux B., Tocchini M. (1974)
Riv. Zootec. Vet., 2, (3) 213.
- 16 - Verga M., Fumagalli C., Verga L. (1983)
Riv. Coniglicoltura n. 4, Aprile 1983.
- 17 - White W.F., Hedlund M.T., Rippel R.H., Arnold W., Flouret G.R. (1973)
Endocrinology, 93 (1) 96.

RIASSUNTO

Gli Autori verificano alcune possibilità operative per migliorare l'efficienza riproduttiva dell'allevamento cunicolo.

In questa sperimentazione sono stati trattate 36 femmine di razza "Bianca di Nuova Zelanda" di 4½ mesi di età con un peso medio di Kg. $3,3 \pm 0,3$.

Su questi animali sono stati effettuati i seguenti trattamenti:

1° Gruppo ml 0,5 di soluzione fisiologica; 2° Gruppo ml 0,8 di testosterone; 3° Gruppo ml 0,8 di testosterone + ml 0,2 di GnRH; 4° Gruppo ml 0,2 di GnRH.

Le femmine sono state classificate in base alla colorazione della vulva prima e dopo il trattamento in 3 gruppi (bianco, rosa, rosso) per evidenziare l'eventuale influenza di questo sulla colorazione stessa.

Sono stati rilevati i seguenti parametri:

- Percentuale di accettazione.
- Percentuale di gravidanza (♀ gravide/ ♀ coperte).
- Percentuale di gravidanza (♀ gravide/ ♀ trattate).
- Numero nati totali/ femmina accoppiata.

Per quanto la colorazione della vulva, l'accettazione del maschio, la percentuale di gravidanza, i trattamenti eseguiti hanno influenzato positivamente questi parametri. Viceversa il numero medio di nati per femmina non ha subito variazioni di rilievo.

SUMMARY

Autors examine some operative possibilities to improve reproductive efficiency in rabbit breeding.

In this research we have considered 36 females New Zealand White rabbit 4½ month, average weight Kg. $3,3 \pm 0,3$.

On this animals we have traied the following treatment:

1° Group ml 0,5 salin medium; 2° Group ml 0,8 testosterone; 3° Group ml 0,8 testosterone + ml 0,2 GnRH; 4° Group ml 0,2 GnRH.

Females has been classified for vulva's colouring before and after each treatment in 3 different groups: white, rose, red to show the possible influence of the treatment on the colouring of the vulva.

This parameters have been analized :

- Receptive does ratio
- Whelping rate (♀ pregnant/♀ mated)
- Whelping rate (♀ pregnant/♀ treated)
- Litter size at birth/ ♀ mated

On the colouring of the vulva, receptive does ratio and conception rate the positive influence of the treatment is quite clear. On the contrary litter size at birth has not been influenced.

