

Impiego di buserelin acetato per l'induzione dell'estro della specie suina



R. COMPIANI¹, E. ARIOLI², B. ZIZIOLI², F. MESSINA³,
S. GROSSI¹, C.A. SGOIFO ROSSI¹

¹ Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare (VESPA), Università degli Studi di Milano

² Medico Veterinario Libero Professionista

³ Azienda Terapeutica Italiana A.T.I. s.r.l.

RIASSUNTO

Il perfezionamento dell'inseminazione artificiale nella specie suina ha portato a notevoli miglioramenti in termini di fertilità, efficienza del lavoro e progresso genetico. Al fine di colmare il gap temporale tra il tempo sostanzialmente limitato di sopravvivenza degli spermatozoi rispetto alla lunga e variabile fase estrale della scrofa, i protocolli di fecondazione aziendali si basano fondamentalmente su multiple inseminazioni artificiali. Poter ottenere gli stessi risultati con un solo intervento fecondativo, consentirebbe di ridurre i costi affrontati per l'acquisto o la produzione del seme e di poter disporre diversamente di risorse e manodopera. L'obiettivo del presente studio era mettere a confronto il classico protocollo di fecondazione basato sulla rilevazione dell'estro seguito da fecondazioni multiple, con l'impiego di buserelin acetato al fine di indurre l'ovulazione ed effettuare un solo intervento fecondativo. Lo studio ha coinvolto 118 soggetti suddivisi in due gruppi sperimentali omogenei. Il protocollo di induzione dell'estro era basato sulla somministrazione di 0,01 mg di buserelin acetato 8-12 ore dopo l'individuazione dell'estro posticipando al giorno successivo la prima ed unica fecondazione. Nel 95% dei casi, i soggetti del gruppo di trattamento non hanno mostrato segni di calore a 12 ore dalla prima e unica fecondazione. I controlli, hanno invece richiesto almeno 2 interventi fecondativi e nel 10,3% dei casi anche di un terzo. È stata riscontrata inoltre una maggiore incidenza di ritorni in calore prima della diagnosi ecografica nel gruppo di controllo. Non sono state evidenziate differenze significative tra i gruppi per quanto riguarda incidenza di aborti e caratteristiche delle nidiate.

PAROLE CHIAVE

Scrofa, buserelin acetato, induzione ovulazione, inseminazione artificiale.

INTRODUZIONE

A partire dagli anni '40, in campo suinicolo, è stata svolta un'imponente attività di ricerca teorica e applicata, in fatto di nutrizione, fisiologia, genetica, management aziendale ed ambiente di stabulazione. I risultati conseguiti hanno costituito le fondamenta per lo sviluppo e la selezione di linee genetiche femminili estremamente prolifiche, di sistemi e pratiche di allevamento e di tecnologie sempre più all'avanguardia, che hanno significativamente implementato le performance e l'efficienza riproduttiva del settore¹. Un'imponente attività di raccolta dati, effettuata su centinaia di migliaia di scrofe, ha evidenziato come, già nel 1990, il tasso di portata al parto si fosse attestato su valori percentuali importanti, compresi tra l'80% ed il 90%, con una dimensione media delle nidiate variabile tra 11 e 13 suinetti². I dati più recenti, raccolti su oltre 13 mila scrofe, hanno rivelato che il tasso di portata al parto ha raggiunto valori percentuali dell'86% e che il numero medio di suinetti nati per nidiate è di 14³. Gran parte del merito di tale elevata efficienza riproduttiva negli allevamenti suinicoli può essere attribuita all'utilizzo dell'inseminazione artificiale. L'inseminazione artificiale ha portato indubbiamente a

miglioramenti in termini di fertilità, efficienza del lavoro e genetica, anche grazie a tecniche di lavorazione del seme sempre più all'avanguardia e allo sviluppo di semplici metodi per monitorarne i risultati⁴. Per tali ragioni, al momento è il metodo più utilizzato per gestire la riproduzione negli allevamenti intensivi. La normale prassi aziendale prevede la rilevazione manuale dell'estro e in media due inseminazioni artificiali a distanza di circa 24h⁵. Il principio base dell'inseminazione artificiale è il deposito di una quantità sufficiente di sperma, pulito e non contaminato, nel punto corretto dell'apparato riproduttore femminile e nel momento più opportuno in relazione all'ovulazione⁶. L'ovulazione, nella scrofa, avviene al 70% della fase estrale, ovvero a circa 30-35h dall'insorgere dell'estro. Questo però è un dato soltanto teorico. È notevole infatti la variabilità individuale, sia nelle scrofe che nelle scroffette, in termini di intervallo tra l'inizio dell'estro e l'ovulazione. Questo aspetto rappresenta una problematica che limita la possibilità di fecondare gli animali sempre nel momento migliore⁷. Per tale motivo si ricorre ad inseminazioni multiple. Con più atti inseminativi si cerca di assicurare la presenza, nelle vie genitali femminili, di un adeguato numero di spermatozoi per tutta la durata della fase estrale⁶. Normalmente con una rilevazione attenta dell'estro e due atti inseminativi si riesce comunque ad ottenere un'elevata fertilità. In caso di perpetrazione delle manifestazioni estrali, viene effettuata una terza inseminazione a 12-24 ore dalla seconda^{8,9}.

Autore per la corrispondenza:
Riccardo Compiani (riccardo.compiani@gmail.com).

Molti addetti del settore sono però interessati allo sviluppo di tecniche e protocolli che rendano la gestione della riproduzione sempre più efficiente: l'obiettivo ambizioso, sarebbe quello di fecondare tutte le scrofe con un'unica inseminazione, effettuata nel momento migliore in relazione all'ovulazione, utilizzando quindi un'unica dose di seme^{10,11}. Questo garantirebbe un grande risparmio per i produttori ed una gestione più efficiente del lavoro in azienda. Una sola inseminazione artificiale, effettuata nel momento più opportuno e prefissato, consentirebbe agli allevatori di ridurre i costi affrontati per l'acquisto o la produzione del seme, visto il minor numero di dosi impiegate, e di poter disporre diversamente, ed in altri settori dell'allevamento, delle risorse e della manodopera prima utilizzate per le molteplici inseminazioni. Inoltre, l'utilizzo di un numero inferiore di dosi è un incentivo per gli allevatori alla scelta di verri di maggior pregio genetico, con conseguente miglioramento della genetica dei soggetti allevati^{12,13}. Appare quindi chiaro come questo cambiamento possa determinare un aumento dell'efficienza globale dell'allevamento. È però necessario che si sviluppino e applichino protocolli non solo di sincronizzazione dell'estro ma anche dell'ovulazione. Il controllo dell'ovulazione risulta essere infatti l'approccio più efficace con cui si può ottenere un intervallo di tempo ottimale e certo tra l'ovulazione e l'atto di inseminazione artificiale^{5,8,9}. Per sincronizzare l'ovulazione è possibile ricorrere a trattamenti ormonali a base di GnRH per la loro capacità di indurre il rilascio dell'ormone luteinizzante^{13,14} o suoi agonisti come prodotti a base di buserelina o altri fattori di rilascio delle gonadotropine^{5,15,16}. La buserelina è un analogo sintetico dell'ormone liberatore delle gonadotropine (GnRH), che controlla le concentrazioni di ormone luteinizzante (LH) e follicolo-stimolante (FSH). In particolare stimola le cellule ipofisarie provocando la secrezione di questi due ormoni. Poiché FSH e LH giocano un ruolo fondamentale nella maturazione finale del follicolo pre-ovulatorio, la buserelina ha la capacità di indurre e sincronizzare l'ovulazione, migliorando il tasso di concepimento.

Sulla base di tali premesse è stato effettuato uno studio con l'obiettivo di mettere a confronto il classico protocollo di fecondazione basato sulla rilevazione dell'estro seguito da fecondazioni multiple, con l'impiego di buserelin acetato al fine di indurre l'ovulazione ed effettuare un solo intervento fecondativo.

MATERIALI E METODI

La prova è stata condotta in un allevamento ben rappresentativo della realtà zootecnica italiana, controllato per le principali problematiche infettive della sfera riproduttiva e caratterizzato da elevato livello manageriale. Sono stati inclusi nello studio 118 animali suddivisi in due gruppi sperimentali omogenei. Lo studio è stato effettuato nel periodo compreso tra il 15 agosto e il 20 settembre. Il protocollo adottato è quello riportato nella Tabella 1.

L'induzione dell'ovulazione è stata effettuata mediante la somministrazione di 0,01 mg di buserelin acetato (pari a 2,5 ml di Fertalta, Azienda Terapeutica Italiana A.T.I. s.r.l) per via intramuscolare. In tutti i casi le fecondazioni e l'induzione dell'ovulazione sono state effettuate a seguito della rilevazione dell'estro e non su calori indotti. La rilevazione dell'estro è stata effettuata mediante la valutazione del riflesso di immobilità in presenza del verro. Sono stati raccolti i seguenti dati: numero di interventi fecondativi per animale, numero di ritorni in calore prima della diagnosi di gravidanza effettuata tra il 21° e il 28° giorno dopo l'ultimo intervento fecondativo, numero di animali gravidi alla diagnosi di gravidanza, percentuale di aborti. Sono inoltre state valutate le caratteristiche delle nidiate e nello specifico il numero di suinetti nati, il numero di suinetti nati vivi, il loro peso medio e il grado di vitalità valutato secondo il sistema proposto da Baxter e collaboratori¹⁷. I dati sono stati sottoposti ad analisi statistica della varianza utilizzando la procedura General Linear Model del pacchetto statistico SAS.

RISULTATI E DISCUSSIONE

In Tabella 2 sono riportati i risultati relativi agli indici di fertilità. La strategia adottata di induzione dell'ovulazione ha comportato un significativo minore numero di interventi fecondativi per gravidanza accertata ($P < 0,001$). I soggetti del gruppo di trattamento infatti non hanno mostrato segni di calore a 12 ore dal primo ed unico intervento fecondativo per il 95% dei casi. Gli animali del gruppo di controllo, hanno invece richiesto tutti almeno 2 interventi fecondativi e nel 10,3% dei casi anche di un terzo. È stata riscontrata inoltre una maggiore incidenza ($P < 0,05$) di ritor-

Tabella 1 - Schema sperimentale.

	0h	8-12h	30-34h	48h
Controllo	Rilevazione calore	I ^a fecondazione	II ^a fecondazione	Eventuale III ^a fecondazione se ancora calore
Trattamento	Rilevazione calore	Induzione dell'ovulazione	I ^a fecondazione	Eventuale II ^a fecondazione se ancora calore

Tabella 2 - Indici di fertilità.

	n°	Interventi fecondativi	Ritorni in calore prima della diagnosi, % (n°)	Gravide alla diagnosi ecografica, % (n°)	Aborti, % (n°)
Controllo	58	2,10	6,9 (4/58)	100,0 (54/54)	3,7 (2/54)
Trattamento	60	1,06	1,7 (1/60)	100,0 (59/59)	1,7 (1/59)
P	ns	<0,001	<0,05	ns	ns

Tabella 3 - Caratteristiche delle nidiate.

	Suinetti media	Suinetti vivi media	Peso medio, kg	Vitalità*
Controllo	13,0	12,0	1,25	2,58
Trattamento	13,8	12,9	1,28	2,64
<i>P</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

*Vitalità dei suinetti valutata alla nascita secondo il "Vitality score" proposto da Baxter e collaboratori¹⁷:

0 = no movimenti e no respiri dopo 15 secondi dalla nascita

1 = no movimenti ma respiri o tentativi dopo 15 secondi

2 = alcuni movimenti entro 15 secondi con respiri o tentativi

3 = movimenti, respiri e tentativi di raggiungere la stazione in 15 secondi.

ni in calore prima della diagnosi ecografica nel gruppo di controllo. Per quanto riguarda l'incidenza di aborti, non sono state rilevate differenze significative tra i gruppi. I risultati positivi riscontrati sono in linea con quanto riportato in letteratura^{10,11}.

Per quanto riguarda le caratteristiche delle nidiate, i risultati sono riportati in Tabella 3. Non sono state riscontrate differenze significative tra i due gruppi sperimentali per quanto riguarda il numero medio di suinetti totali nati, numero medio di suinetti nati vivi, peso medio o grado di vitalità. Le caratteristiche delle nidiate durante il periodo di monitoraggio non si discostano dalle caratteristiche medie delle nidiate delle aziende oggetto d'indagine. Il differente protocollo di fecondazione non ha quindi influenzato le caratteristiche delle nidiate in accordo con i risultati di studi precedenti^{10,11}.

CONCLUSIONI

Nelle presenti condizioni d'indagine, la somministrazione di 0,01 mg di buserelin acetato per via intramuscolare a circa 12 ore dalla prima individuazione delle manifestazioni estrali è risultata una valida strategia in grado di implementare le performance riproduttive in scrofaia. Il protocollo adottato ha infatti permesso di impiegare, con una percentuale di successo pari al 98%, 1 sola dose di seme nel 95% dei casi. La riduzione degli interventi fecondativi permette di migliorare celermente ed in modo significativo la genetica dell'allevamento limitando il costo relativo alle dosi acquistate di elevato valore. A tale vantaggio economico si deve aggiungere il risparmio relativo alla manodopera necessaria agli interventi fecondativi ed eventualmente al prelievo e preparazione delle dosi di seme. Infine, ma non meno importante, il protocollo di stimolazione dell'ovulazione non comporta alterazioni delle caratteristiche delle nidiate.

■ Use of buserelin acetate for estrus induction of swine

SUMMARY

Introduction - The introduction and the perfection of artificial insemination technique in swine breeding led in last decades to significant improvements in terms of fertility, work efficiency and genetic progress. Considering the long and variable oestrus period of the sows and the relative limited sperm survival time, the actual reproductive protocols

adopted in intensive farms are based on multiple inseminations. Being able to achieve the same good results but with a single artificial insemination, would allow farmers to reduce the costs incurred for sperm purchase or production saving at the same time labour and resources.

Aim - The objective of the present study was to compare the classic reproductive protocol based on oestrus detection followed by multiple inseminations, with the use of buserelin acetate in order to induce ovulation and performing a single insemination.

Materials and methods - 118 sows have been included in the trial and divided in two experimental groups. Controls were submitted to the traditional reproductive protocol based on oestrus detection and two/three inseminations. Treatments were submitted to ovulation induction with intramuscular administration of 0,01 mg of buserelin acetate 8-12 h after heat detection, followed by one artificial insemination. Data regarding reproductive indexes and litters characteristics were collected.

Results and discussion - The protocol applied led to a statistical reduction of number of artificial inseminations to obtain pregnancy. The 95% of treatment sows showed no signs of heat 12 hours from the first and only one insemination. Controls, however, required at least 2 inseminations and 10.3% of them required even a third one. In control group was even found a greater incidence of heat returns before the ultrasound diagnosis. No statistical differences were found between groups regarding abortion incidence and litter characteristics.

Conclusions - In the present study condition, the ovulation induction based of buserelin acetate administration led to the possibility to obtain good fertility results with only one artificial insemination without effects on litter characteristics.

KEY WORDS

Sow, buserelin acetate, ovulation induction, artificial insemination.

Bibliografia

1. Focroft G.R., Dixon W.T., Novac S., Putnam C.T., Town S., Vinsky M.D.A. (2006) The biological basis for prenatal programming of post-natal performance in pigs. *J Anim Sci.*, 84:E105-102.
2. Colenbrander B., Feitsma H., Grooten H.J. (1993) Optimizing semen production for artificial insemination in swine. *J Reprod Fertil Suppl*, 48:207-15.
3. Yeste M., Estrada E., Pinart E., Bonet S., Mirò J., Rodriguez-Gil J.E. (2014) The improving effect of reduced glutathione on boar sperm cryotolerance is related with the intrinsic ejaculate freezability. *Cryobiology*, 68:251-61.

4. Gerrits R.J., Lunney J.K., Johnson L.A., Pursel V.G., Kraeling R.R., Rohrer G.A. (2005) Perspectives for artificial insemination and genomics to improve global swine populations. *Theriogenology*, 63:283-99.
5. Knox R.V. (2016) Artificial insemination in pigs today. *Theriogenology*, 85:83-93.
6. Steverink D.W.B., Soede N.M., Bouwman E., Kemp B. (1998) Semen backflow after insemination and its effects on fertilisation in sows. *Anim Reprod Sci*, 54:109-119.
7. Falceto M.V., Ubeda J.L., Magapor S.L., Collell M., Santamaria R., Jimenez M., Menjon R. (2014) Inseminate only once: less stillbirths while maintaining reproductive performance. *International Pig Topics*, 29(6):11-12.
8. Weize K.F., Wagner-Rietschel H., Waberski D., Richter L., Krieter J. (1994) The onset of heat after weaning, heat duration and ovulation as major factors in AI timing in sows. *Reprod Domest Anim*, 29:433-43.
9. Belstra B.A., Flowers W.L., See M.T. (2004) Factors affecting temporal relationships between estrus and ovulation in commercial sow farms. *Anim Reprod Sci*, 84:377-94.
10. Mattinat-Botté F., Venturi E., Guillouet P., Driancourt M.A., Terqui M. (2010) Induction and synchronization of ovulations of nulliparous and multiparous sows with an injection of gonadotropin-releasing hormone agonist (Receptal). *Theriogenology*, 73:332-342.
11. Driancourt M.A., Cox P., Rubion S., Harnois-Milon G., Kemp B., Soede N.M. (2013) Induction of an LH surge and ovulation by busserelin (as Receptal) allows breeding of weaned sows with a single fixed-time insemination. *Theriogenology*, 80(4):391-399.
12. Nissen A.K., Soede N.M., Hyttel P., Schmidt M., D'hoore L. (1997) The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows as investigated by ultrasonography. *Theriogenology*, 47:1571-1582.
13. Kraeling R.R., Webel S.K. (2015) Current strategies for reproductive management of gilts and sows in North America. *J Anim Sci Biotechnol*, 6(1):3.
14. Brüssow K.P., Jöchle W., Hühn U. (1996) Control of ovulation with a GnRH analog in gilts and sows. *Theriogenology*, 46:925-34.
15. Brüssow K.P., Scheinder F., Tuchscherer A., Ratky J., Kraeling R.R., Kaniz W. (2007) Luteinizing hormone release after administration of the gonadotropin-releasing hormone agonist Fertilan (Goserelin) for synchronisation of ovulation in pigs. *J Anim Sci* 85:129-37.
16. Von Kaufmann F., Holtz W. (1982) Induction of ovulation in gonadotropin treated gilts with synthetic gonadotropin releasing hormone. *Theriogenology*, 17:141-57.
17. Baxter E.M., Jarvis S., D'Eath R.B., Ross D.W., Robson S.K., Farish M., Nevison I.M., Lawrence A.B., Edwards S.A. (2008) Investigating the behavioural and physiological indicators of neonatal survival in pigs. *Theriogenology*, 69:773-783.