

EFFETTI DELL'IMPIEGO DEL SEME MORTO SULLA FERTILITÀ E SULLA PROLIFICITÀ DELLA SCROFETTA

EFFECT OF THE USE OF DEAD SEMEN, ON FERTILITY AND PROLIFICACY IN GILTS

MAZZONI C.¹, SCOLLO A.¹, TONON F.¹, GHERPELLI M.¹, BONILAURI P.²,
DE RENSIS F.³

¹Medico Veterinario libero Professionista Suivet snc

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

³Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Parma, Italia.

Parole chiave: scrofetta, seme morto, fertilità, prolificità,

Keywords: gilt, dead semen, fertility, prolificacy

Riassunto

Lo scopo del presente lavoro, è stato quello di confrontare gli effetti dell'impiego del seme morto sulla fertilità dell'inseminazione al successivo estro ed il suo effetto sul numero dei suinetti nati totali e mummificati, in scrofette adeguatamente condizionate alla gabbia gestazione.

Nello studio sono state incluse 525 scrofette divise nei seguenti gruppi:

Gruppo I (n=423): scrofette inseminate al momento dell'estro e messe subito nella gabbia gestazione.

Gruppo II (n=56): scrofette messe in gabbia gestazione al rilevamento dell'estro, non inseminate subito, ma inseminate con seme vivo al ciclo estrale successivo.

Gruppo III (n=74): scrofette messe in gabbia gestazione al rilevamento dell'estro, inseminate con seme morto al primo estro, ed inseminate con seme vivo all'estro del ciclo successivo.

Il test di Cuzick per la ricerca del trend fra gruppi ordinati, indica un significativo trend positivo ($p < 0.05$) nel numero dei suinetti nati totali maggiore di 13 passando dal gruppo I al gruppo III. Questa differenza, singolarmente confrontata, fra i gruppi II e rispettivamente I e III, non risulta significativa.

Il numero dei suinetti nati totali è stato più alto per le scrofette trattate con il seme morto (gruppo III) di quanto non sia stato per il gruppo I. La differenza fra i gruppi II e rispettivamente I e III, non risulta significativa.

Per la fertilità (numero di scrofe che hanno partorito rispetto a quelle fecondate), non si sono riscontrate differenze fra i tre gruppi.

I risultati di questo studio, suggeriscono che l'inseminazione con seme morto all'estro precedente a quello servito con il seme vivo, ha un effetto positivo sul successivo numero di nati totali. Questo fatto può essere attribuito anche alla riduzione dei mummificati nel gruppo III rispetto al gruppo I.

Summary

The present study has been conducted to compare the effects of intrauterine infusion of dead boar semen on the reproductive performance at succeeding estrus and its effect of the number of piglets born and born mummify in properly gestation crate adapted gilts.

In this study 525 gilts have been utilized and the animals have been divided in three groups:

Group I (n=399): Inseminated at first heat detection and immediately located into the gestation crate (Control).

Group II (n=53): Immediately located into gestation crate at first heat detection and not yet inseminated but served with alive semen at second heat during the succeeding estrous cycle.

Group III: (n=73) immediately located into gestation crate at first heat detection and inseminated with dead semen and served with alive semen at the succeeding estrous cycle (Dead Semen treatment).

The Cuzick test for a trend across ordered groups indicate a significant positive trend ($p < 0.05$) in the number of total borne piglets greater 13 between for Groups. While, the difference, between Groups II with Group I and III respectively, individually compared, were not significant.

The number of total piglets born was higher in the gilts treated with dead semen (Group III) compared gilts of Group I (Control). There were not differences between Group II and Group I and III.

Fertility (the number of gilts inseminated that farrowed) was not different across groups. The data of this study suggest that the treatment with dead semen at the estrous cycle before insemination has a positive effect on the following number of piglets born. This is in part due a decrease in the number of mummified piglets in Group III compared Group I.

INTRODUZIONE

La gestione della scrofetta, all'interno della contemporanea azienda suinicola, si sta sempre di più consolidando come elemento chiave per il successo dell'impresa. Effettivamente si tratta del futuro dell'azienda a già dalla sua semplice introduzione dipendono tanto la produzione quanto la stabilità sanitaria futura dell'allevamento.

È risaputo che le performance zootecniche della scrofetta al primo parto, abbiano una correlazione positiva con la produttività della scrofa, nei parti successivi (Pinilla et al., 2007) ed ecco perché gli interventi volti ad implementare migliori strategie di gestione della rimonta, porteranno ad avere aziende più performanti (Pinilla et al. 2013). In particolare questo discorso vale per la prolificità. Infatti già nel 1997, la Edwards ha dimostrato che scrofette che presentavano una maggiore prolificità al primo parto, rispetto ad altre, mantenevano questa peculiarità nel contesto di tutto il resto della loro carriera (Edwards, 1997). A questo riguardo poi, è stato dimostrato che un basso numero di suinetti nati al primo parto, ha sia un effetto dannoso sulla vita produttiva della scrofa che sarà, che una maggior incidenza di riforma, rispetto a quei riproduttori che al primo parto fanno più suinetti (Hoge et al., 2011).

Fra le molte strategie volte a migliorare la produttività della scrofetta, c'è quella di permetterle un adeguato periodo di adattamento alla gabbia gestazione, prima dell'inseminazione. Pinillia et al. hanno dimostrato che la scrofetta introdotta nelle gabbia gestazione nove giorni prima della copertura, produce circa 0.9 suinetti nati vivi in meno al parto, rispetto a quella inseminata dopo 18 giorni di adattamento alla gabbia. Il fatto è stato correlato non tanto allo stress zootecnico, quanto a quello alimentare che la nuova condizione impone all'animale (Pinilla et al. 2013).

Altra strategia, altrettanto capace di influenzare positivamente le performances zootecniche della scrofetta, è quella dell'inseminazione al secondo estro, dopo aver provveduto ad un'inseminazione con il seme morto al primo. Studi condotti in Australia (Bischof et al., 1994a), Corea (Riley, 1999), USA (Murray et al, 1986) e Filippine (Captain et al., 2006), indicano che la stimolazione con seme morto dell'utero della scrofetta, effettuata durante l'estro precedente a quello utilizzato per la regolare inseminazione, sia in grado di incrementare il numero di nati e, in alcuni studi, anche la portata la parto. Questo fatto

è da mettere in relazione all'osservazione che nella scrofa, così come per altri mammiferi, la deposizione del seme nelle vie genitali femminili, induca una serie di eventi a cascata, che portano a cambiamenti cellulari e molecolari riconducibili, per molti aspetti, alla classica risposta infiammatoria (Bischof et al., 1994; Robertson et al., 1994). Al riguardo Rozeboom et al. hanno dimostrato che, dopo l'inseminazione, il plasma seminale sopprime la migrazione dei granulociti nell'utero della scrofetta (Rozeboom et al., 1999) ed *in vitro* inibisce la chemiotassi dei neutrofili (Rozeboom et al., 2001). Già dopo alcune ore dalla deposizione del seme nell'utero, a livello di endometrio della scrofa, si osserva una infiltrazione leucocitaria (Bischof et al. 1994; Rozeboom et al., 1998). Nel topo è riportato che alcuni fattori presenti nel seme, siano in grado di attivare, da parte dell'utero, la produzione di fattori di crescita e di citochine come l'interleuchina (IL)-6 e l'IGF (Insuline-like Grow Factor) (Simmen et al., 1992; Robertson et al., 1994). In ogni caso questi lavori suggeriscono che la presenza del plasma seminale sia essenziale nel regolare la reazione immunitaria dell'utero dopo l'inseminazione. Vale comunque la pena segnalare, l'esistenza di altri studi (Bischof et al., 1994; Rozeboom et al., 1999; Lessard et al., 2003) in cui non è stato possibile confermare il ruolo del seme morto, nell'incremento della reazione immunologica dell'utero e, quindi, dell'effetto positivo di questo trattamento, sulla fertilità della scrofa. In conseguenza di ciò, è possibile affermare che a tutt'oggi, non siano ancora ben chiari i meccanismi attraverso i quali, l'impiego del seme morto, possa aumentare la fertilità e la prolificità nelle scrofette.

Lo scopo del presente lavoro, è stato quello di confrontare gli effetti dell'impiego del seme morto sulla fertilità dell'inseminazione al successivo estro e sulle sue ripercussioni sia relativamente ai nati totali che ai mummificati, il tutto confrontato con il condizionamento della scrofetta alla gabbia gestazione. Avere informazioni sui mummificati, potrebbe aiutare a capire se l'effetto positivo, indotto da questa pratica zootecnica, sia da mettere in relazione solo al meccanismo della fertilizzazione, quindi alla sopravvivenza del seme od al suo trasporto, alla sopravvivenza dell'ocita nel tratto genitale femminile, alle condizioni fisiche dell'endometrio, oppure ad un effetto positivo sulla sopravvivenza embrionale e fetale.

MATERIALI E METODI

Azienda e animali

L'azienda, è un sito uno, posto nella pianura padana, ha una consistenza numerica di circa 700 scrofe e una gestione a bande bisettimanale (10 bande) con svezzamento a 24 giorni. Si alternano quindi quattro mesi nei quali viene svezzato il giovedì e quattro mesi successivi nei quali lo svezzamento è posticipato al lunedì. L'alimentazione è automatica tanto in gestazione quanto in sala parto e si contano tre unità lavorative. Viene allevata una genetica ibrida commerciale inglese (LWxLD), con rimonta interna, realizzata tramite il solo acquisto del materiale seminale. A differenza della progenie di F1, immediatamente allontanata nei siti due, le scrofette Parentali compiono il loro ciclo produttivo all'interno delle mura aziendali in uno svezzamento ed ingrasso dedicati. Qui viene implementato un ordinario programma vaccinale contro Malattia di Aujeszky, Mal Rossino e Parvovirosi, mentre per la PRRS si realizza un condizionamento forzato verso il virus aziendale. La selezione avviene allo svezzamento (circa 7 kg) ed in prossimità dell'introduzione in stimolazione in base ai criteri standard forniti dalla compagnia genetica stessa.

Gestione del seme e suo impiego:

A differenza del seme usato per l'inseminazione fecondante, acquistato da un centro verri territoriale di fama nazionale, il seme morto, è stato ottenuto da due verri aziendali. Il loro prelievo, realizzato artificialmente da un operatore esperto, viene eseguito con cadenza bisettimanale su ciascun verro e tramite l'ausilio di una cavallina. Il seme viene raccolto in un termos previo filtraggio garantito da due garze di cotone. Viene poi pesato, valutato (microscopicamente e tramite fotocolorimetro), diluito, con un diluente commerciale preposto, e stoccato in buste da 90 ml per ottenere dosi da $2,5 \times 10^6$ spermatozoi/dose. La neutralizzazione completa del seme viene realizzata mediante congelamento per cinque giorni consecutivi, così come da indicazioni olandesi, quindi scongelato, valutato ed immediatamente utilizzato sulle scrofette precedentemente trovate in estro.

Descrizione del trattamento

Il periodo di osservazione della prova è andato dal giugno del 2011 al marzo del 2013. Nel contesto di tale periodo non sono stati registrati eventi morbosi di particolare gravità e non sono mutati i principali elementi zootecnici quali: approvvigionamento del seme, tecnico e l'età di fecondazione delle scrofette, sempre attorno ai 240 giorni di vita e 140kg di peso vivo.

In questo studio sono state utilizzate 525 scrofette suddivise in tre gruppi così formati:

Gruppo I (n=423): scrofette inseminate al momento dell'estro e messe subito nella gabbia gestazione.

Gruppo II (n=56): scrofette messe in gabbia gestazione al rilevamento dell'estro, non inseminate subito, ma inseminate con seme vivo al ciclo estrale successivo (indicativamente 18-22 giorni dopo).

Gruppo III (n=74): scrofette messe in gabbia gestazione al rilevamento dell'estro, inseminate subito con seme morto per essere poi inseminate con seme vivo all'estro del ciclo successivo (indicativamente 18-22 giorni dopo).

Analisi Statistica

I tre trattamenti sono stati confrontati per riscontrare differenze nella fertilità (numero di scrofe rimaste gravide / numero di scrofe inseminate), numero di nati totali per scrofa, numero di feti mummificati per scrofa, probabilità di avere più di 13 nati totali per parto o probabilità di avere almeno un feto mummificato per parto.

La fertilità, la probabilità di avere più di 13 nati totali per parto e la probabilità di avere almeno un feto mummificato per parto è stata confrontata tramite test χ^2 . Il numero di nati totali e di feti mummificati per scrofa è stato confrontato tramite test ANOVA ad una via, per campioni completamente randomizzati.

L'ipotesi che esista un trend positivo nella possibilità di osservare più di 13 nati totali o un trend negativo nella possibilità di osservare almeno un feto mummificato tra i tre trattamenti è stata valutata tramite il test per il trend sviluppato da Cuzick (1985), test non parametrico estensione del test di Wilcoxon per gruppi ordinati.

In tutti i test effettuati il livello di significatività è stato posto a $p < 0.05$ ed il software statistico utilizzato è stato Intercooled Stata 7.0 (Stata Corporation, College Station, TX).

RISULTATI

I tre gruppi di trattamento non hanno mostrato differenze statisticamente significative ($p > 0.05$) in termini di fertilità (numero di animali che hanno partorito/numero di animali inseminati-tab.1)

Tabella 1: Fertilità per gruppo di trattamento: Gruppo I (n=423): scrofette inseminate al momento dell'estro e messe subito nella gabbia gestazione. Gruppo II (n=56): scrofette messe in gabbia gestazione al rilevamento dell'estro, non inseminate, ma inseminate con seme vivo al ciclo estrale successivo. Gruppo III (n=74): scrofette messe in gabbia gestazione al rilevamento dell'estro, inseminate con seme morto al primo estro, ed inseminate con seme vivo all'estro del ciclo successivo.

Table 1: fertility for each treatment group: Group I (n=399): Inseminated at first heat detection and immediately located into the gestation crate. Group II (n=53): immediately located into gestation crate at first heat detection and not yet inseminated but served with alive semen at second heat during the succeeding estrous cycle. Group III: (n=73) immediately located into gestation crate at first heat detection and inseminated with dead semen and served with alive semen at the succeeding estrous cycle.

Gruppo	Scrofa gravida	Ritorno in calore	fertilità
I	399	24	94.0%
II	53	3	94.6%
III	73	1	98.4%

Globalmente il numero medio dei nati totali e dei nati mummificati differisce tra i gruppi ($F_{2,522}=3.57$ $p<0.05$; $F_{2,522}=6.81$ $p<0.05$), in particolare nei confronti a due a due tra i tre trattamenti, il trattamento III ha ottenuto più nati totali e meno feti mummificati rispetto al gruppo I ($p<0.05$), tab.2.

Tabella 2: Nati totali vivi e nati mummificati: Gruppo I: scrofette inseminate al I estro. Gruppo II: scrofette inseminate all'estro successivo, con adattamento alla gabbia. Gruppo III: scrofette inseminate con seme morto al primo estro e con seme vivo all'estro successivo.

Table 2: total born piglets and mummified piglets: Group I: Gilts first estrus inseminated. Group II: Gilts properly adapted to gestation crate and second estrus served. Group III: Gilts properly adapted to gestation crate, first estrus dead semen inseminated and served with alive semen the succeeding estrous cycle.

Gruppo	scrofette	Nati totali	Nati mummificati
I	399	12,63±3.31 ^a	0.63±1.17 ^a
II	53	13,01±3.23 ^{ab}	0.36±0.79 ^{ab}
III	73	13,66±3.18 ^b	0.16±0.47 ^b

media ±DS

a,b= i gruppi con lettere differenti hanno medie che differiscono statisticamente tra loro.

Le frequenze per i casi in cui sono stati osservati più di 13 nati totali sono riportate in tabella 3. Anche in questo confronto, esistono differenze tra gruppi nella probabilità di osservare più di 13 NT ($p<0.05$). Nel gruppo III la probabilità di osservare più di 13 nati totali è 1.6 volte maggiore rispetto al gruppo I (Odds ratio = 1.665 CI95% 0.977-2.856, $p<0.05$), mentre la probabilità di osservare almeno un feto mummificato per parto è 3,6 volte superiore nel gruppo I rispetto al gruppo III (Odds ratio = 3.678 CI95% 1,747-8.656, $p<0.05$).

Tabella 3: Frequenze per i casi in cui sono stati osservati più di 13 nati totali o almeno un feto mummificato per parto. Gruppo I: scrofette inseminate al primo estro, Gruppo II: scrofette non inseminate al primo estro ma all'estro successivo, Gruppo III: scrofette inseminate con seme morto al primo estro e con seme vivo al l'estro successivo.

Table 3: frequency for the cases in which it was observed more than 13 total born piglets or at least one mummified piglet for farrowing: Group I: Gilts inseminated at first estrus. Group II: Gilts not inseminated at first estrus but inseminated at the succeeding estrus. Group III: Gilts inseminated first estrus with dead semen and inseminated with alive semen at succeeding estrous.

	Nati totali maggiori di 13		Feti mummificati	
	0 (meno di 14NT)	1 (più di 13NT)	0 (presenti)	1 (assenti)
Gruppo I	221	178 (44.8%) ^a ₈₉	136 (34.1%)	263 ^a
Gruppo II	28	25 (47.2%) ^{a,b}	12 (22.6%)	41 ^{a,b}
Gruppo III	31	42 (57.5%) ^b	9 (12.3%)	64 ^b

a,b= i gruppi con lettere differenti in apice hanno medie che differiscono statisticamente tra loro. NT=nati totali

Infine esiste un trend statisticamente significativo (test di Cuzick per la ricerca del trend fra gruppi ordinati, $p < 0.05$) di ottenere più di 13 nati totali passando dal gruppo I al gruppo II e dal gruppo II al gruppo III, questa progressiva differenza non è osservabile se si considerano le probabilità di osservare più di 11 o più di 12 nati totali. Mentre esiste un trend negativo, anch'esso statisticamente significativo ($p < 0.05$), nella probabilità di ottenere almeno un feto mummificato tra i tre gruppi, cioè le scrofette del gruppo I hanno mostrato più probabilità di quelle del gruppo II di avere almeno un feto mummificato e progressivamente queste hanno mostrato più probabilità di avere un feto mummificato rispetto al gruppo III.

DISCUSSIONE

Alla luce dei dati osservati in questo studio l'aspetto più interessante è certamente quello legato al trend statisticamente significativo ($p < 0.05$) di ottenere più di 13 nati totali e un trend significativamente negativo di avere dei parti con feti mummificati ($p < 0.05$) negli animali trattati con seme morto. Questo trend si osserva anche comparando il gruppo II con il gruppo I e III, ma la differenza non risulta statisticamente significativa. Lavori precedenti riportano, in accordo con il nostro studio, che il trattamento con seme morto al ciclo estrale precedente a quello dell'inseminazione può avere un effetto positivo sull'utero e determinare un aumento dei suinetti nati (Bischof et al., 1994a; Riley, 1999; Murray and Grifo, 1986; Captain et al., 2006). Per quanto riguarda la fertilità l'utilizzo del seme morto, relativamente al nostro studio, non ha causato delle differenze con gli altri gruppi. Quest'osservazione è in accordo con alcuni autori (Bischof et al., 1994; Rozeboom et al., 1999; Lessard et al., 2003) ma non altri (Riley, 1999; Murray and Grifo, 1986; Captain et al. 2006). Queste differenze tra studi non sono di facile spiegazione, ma nel nostro caso potrebbe essere dovuto anche alla fertilità osservata che risulta superiore al 94% in tutti i gruppi studiati.

Mediante la valutazione dei nati mummificati il nostro studio indica che una delle conseguenze positive dell'effetto dell'utilizzazione del seme morto consiste nella riduzione del numero di parti con feti mummificati.

CONCLUSIONI

I risultati di questo studio indicano che il trattamento con seme morto è in grado di migliorare la prolificità delle scrofette anche attraverso un meccanismo che riduce il numero dei suinetti nati mummificati. Inoltre il solo adattamento alla gabbia gestazione, rispetto a sistemi zootecnici più convenzionali di introduzione della scrofetta, non è sufficiente per ottenere un miglioramento delle performances zootecniche al parto. Per ottenere ciò è stato necessario aggiungere l'inseminazione con il seme morto durante l'estro precedente.

BIBLIOGRAFIA

Bischof, R. J., C.S. Lee, M. R. Brandon, Meeusen, E. (1994). Inflammatory response in the pig uterus induced by seminal plasma. *J. Reprod. Immunol.* 26, 131–146.

Capitan, S.S., Peñalba, F.F., Geromol, F.B., Dalumpienes, J.M. (2006). Improved Reproductive Efficiency in Gilts by Intrauterine Infusion of Killed Boar Semen before Breeding. *Asian-Aust J Anim Sci* 19, 789-792.

Cuzick, J. (1985). A Wilcoxon-type test for trend. *Statistics in Medicine* 4, 87–90.

Edwards, S. (1997). Management of Gilts, primiparous sows, multiparous sows and boars. XVIII Symposium Anaporc. Lleida, 13 y 14 Noviembre 1997. Pp 73-85

Hoge M.D., Bates R.O. (2011). Developmental factors that influence sow longevity, *J ANIM SCI*, 89:1238-1245.

Lessard, M., Lépine, M., Matte, J.J., Palin, M.F., Laforest, J.P. (2003). Uterine immune reaction and reproductive performance of sows inseminated with extended semen and infused with pooled whole dead semen 1,2,3. *J. Anim. Sci.* 81, 2818-2825.

Murray, F. A. and A. P. Grifo, Jr. (1986). Intrauterine infusion of killed semen to increase litter size in gilts. *J. Anim. Sci.* 62:187-190.

Murray, F. A., A. P. Grifo, Jr. and C. F. Parker. (1983). Increased litter size in gilts by intrauterine infusion of seminal and sperm antigens before breeding. *J. Anim. Sci.* 56:895-900.

Pinilla, J.C., Kummer R., Piva J., Williams N.H. (2007). Key components to wean 11+ piglets per farrowing, 38th AASV meeting, Good to great, March 3-6 Orlando Florida, 215-220.

Pinilla J.C., Teuber R., Piva J., Coates J. (2013). Gilt management 2.0, 44th AASV meeting, Purpose-Inspired Practice, March 2-5 San Diego California, 133-137

Riley, J. (1999). Uterine Priming of Gilts to Increase Litter Size. Associates International, 'Warreners' MS 150, Pittsworth Qld 4356

Robertson, S. A., Seemark, R.F., Guilbert, L.J., Wegmann, R.F. (1994). The role of cytokines in gestation. *Crit. Rev. Immunol.* 14, 239–292.

Rozeboom, K. J., M. H. T. Troedsson, and B. G. Crabo. (1998). Characterization of the post-mating uterine inflammatory response in the gilt. *J. Reprod. Fertil.* 114:195–199.

Rozeboom, K. J., Troedsson, M.H.T., Molitor, T.W., Crabo, B.J. (1999). The effect of spermatozoa and seminal plasma on leukocyte migration into the uterus of gilts. *J. Anim. Sci.* 77, 2201–2206.

Rozeboom, K. J., Rocha-Chavez, G., Troedsson, H.T. (2001). Inhibition of neutrophil chemotaxis by pig seminal plasma in vitro: a potential method for modulating post-breeding inflammation in sows. *Reproduction* 121:567–572.

Simmen, F. A., R. C. M. Simmen, R. D. Geisert, F. Martinat-Botte, F. W. Bazer, and M. Terqui. (1992). Differential expression, during the estrous cycle and pre- and post-implantation conceptus development, of messenger ribonucleic acids encoding components of the pig uterine-like growth factor system. *Endocrinology* 130:1547–1556.