



## PHYSIOLOGY AND MODULATION FACTORS OF OVULATION IN RABBIT REPRODUCTION MANAGEMENT

## FATTORI CHE MODULANO L'OVULAZIONE NELLA GESTIONE DELLA RIPRODUZIONE DEL CONIGLIO

*Mattioli S., Maranesi M., Castellini C., Rebollar P., Dal Bosco A., Garcia-Garcia RM.*



### Speakers:

*Dr. Simona Mattioli*

*Dpt Agricultural, Food and Environmental Science,  
University of Perugia, Italy  
simona.mattioli@unipg.it*



*Dr. Margherita Maranesi*

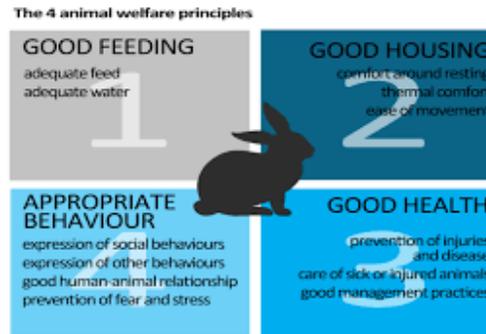
*Dpt Veterinary Medicine  
University of Perugia, Italy  
margherita.maranesi@unipg.it*



# Punti critici nelle produzioni animali: percezione del consumatore



## « One welfare »



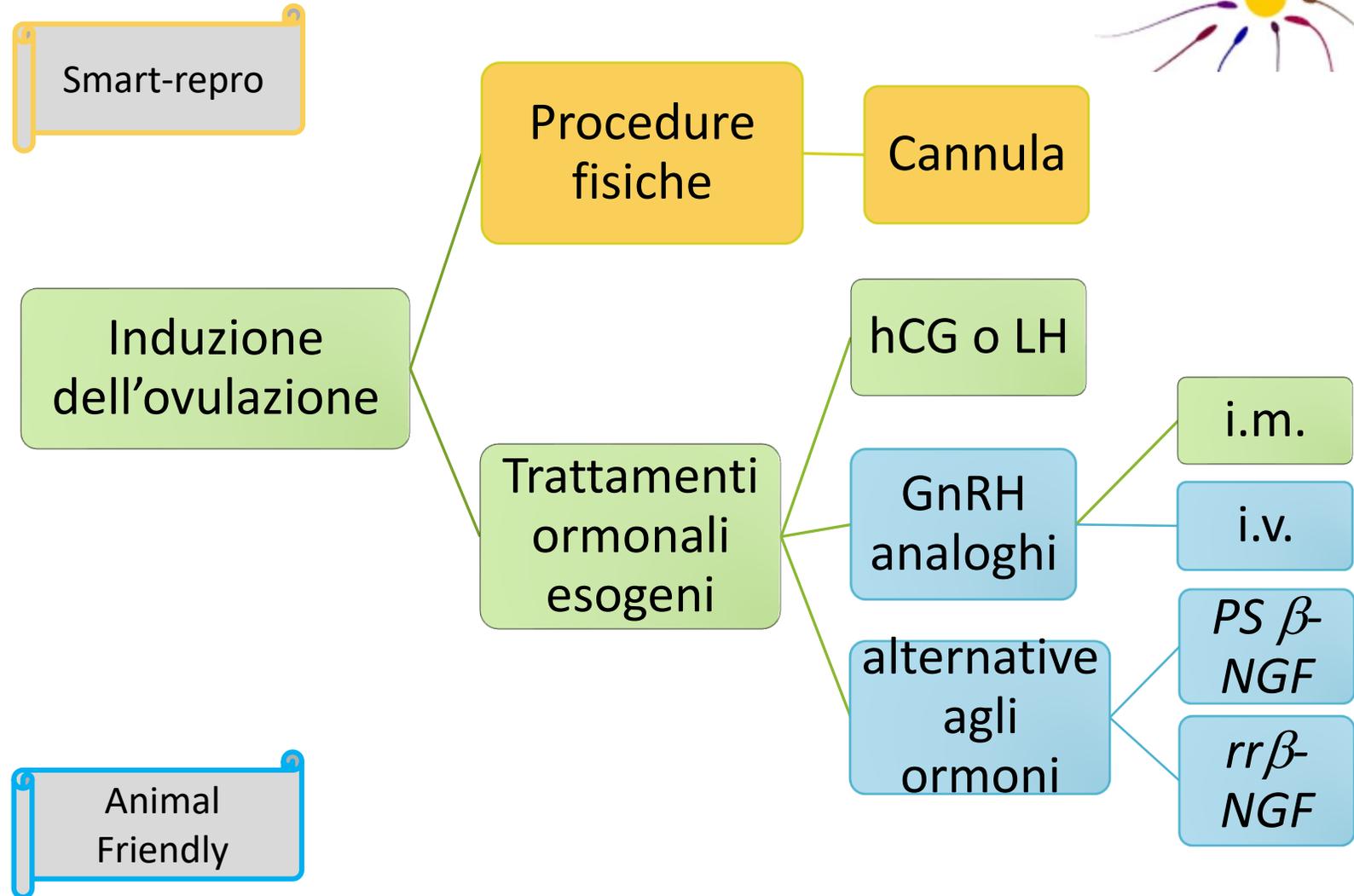
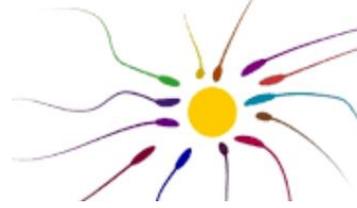
Overview report della commissione Europea:  
"Commercial Rabbit Farming in the European Union"

## RIPRODUZIONE

- ✓ Tecniche riproduttive più intelligenti (SMART-REP: RR più adatti al tutto pieno tutto vuoto, cannule di inseminazione, etc...)
- ✓ Gestione «Animal Friendly» (salute, benessere, immagine del Coniglio, assenza di antibiotici, assenza di ormoni sintetici)

La gestione riproduttiva rappresenta uno dei principali fattori in grado di assicurare produttività, salute e benessere dei conigli

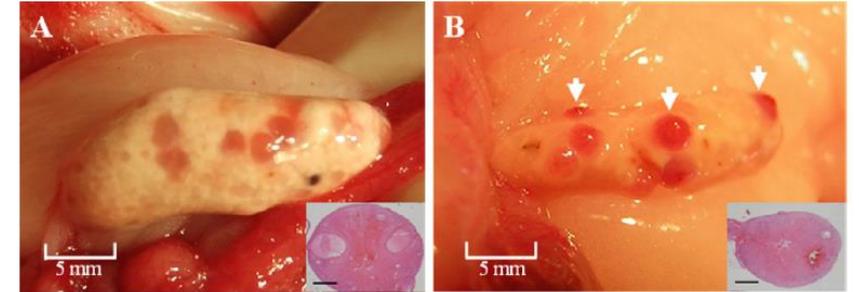
# Le attuali metodologie per l'induzione dell'ovulazione



## GnRH i.m. vs i.v.

Da 15 anni è nota l'efficacia del GnRH nell'induzione dell'ovulazione (i.m.)

- La dose molecolare dipende dagli agenti degradativi vaginali
- La dose richiesta i.v. è ~10 volte superiore a i.m
- L'efficienza nell'ovulazione è maggiore (analoghi/adiuvanti)

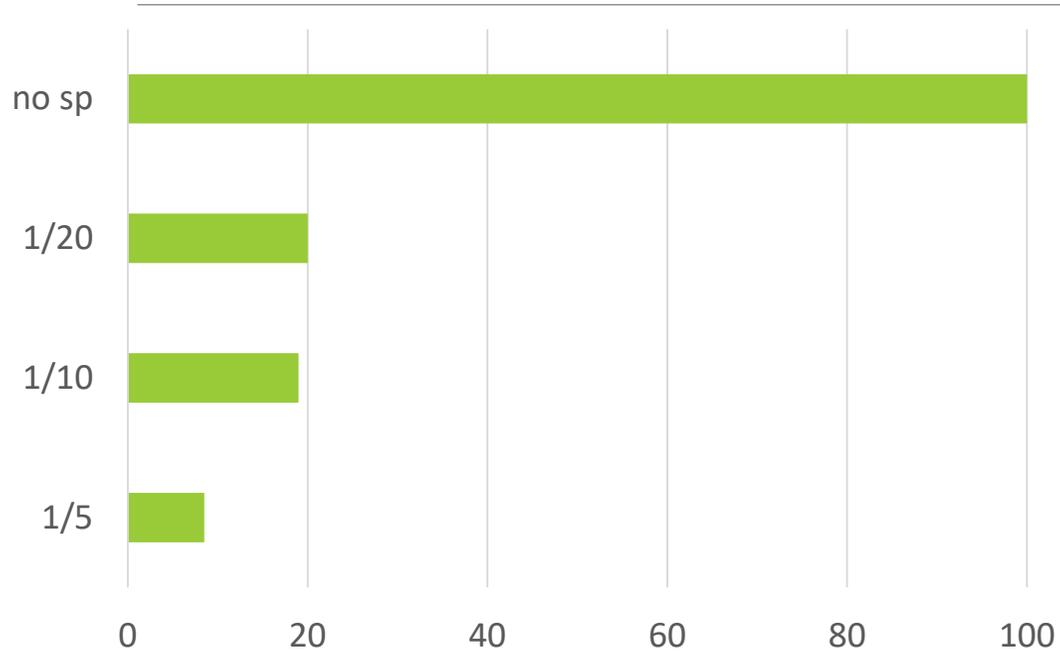


Ovulazione  
dopo i.m.  
GnRH

Ovulazione  
dopo i.v.  
GnRH



## GnRH (% dose iniziale) con differente diluizione in PS



Viudes et al., 2014

## GnRH i.v.

Aggiunta di inibitori delle proteasi (bestatina, EDTA, aminopeptidasi) nel medium di diluizione per ridurre la degradazione del GnRH



Extender	Motilità (%)	Integrità acrosomale (%)	Vitalità(%)
CNT	75.00±4.47	86.25±4.31	64.33±5.83
Ext+GnRH analoghi	78.83±4.28	86.53±4.11	68.55±5.83
ExT+GnRH analoghi + inibitore (AMI)	67.92±4.28	84.44±4.11	64.24±5.83

Extender: TRIS-Citric acid-Glucose; GnRH analogue: 10µg/ml buserelin acetate; AMI: Aminopeptidases inhibitors (10µM bestatin+ 20mM EDTA)



**Semen quality**

Casares-Crespo et al., 2018

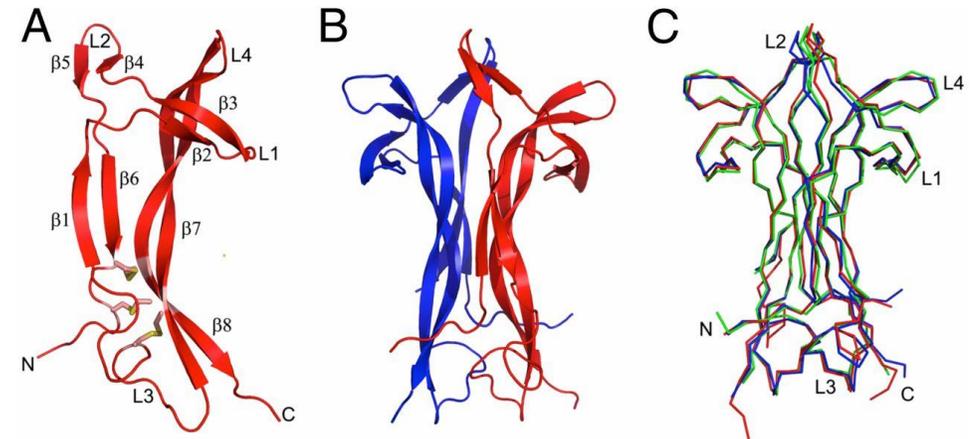
alternative agli  
ormoni

## The nerve of ovulation-inducing factor in semen

Marcelo H. Ratto<sup>a</sup>, Yvonne A. Leduc<sup>b</sup>, Ximena P. Valderrama<sup>c</sup>, Karin E. van Straaten<sup>d</sup>, Louis T. J. Delbaere<sup>b,1</sup>, Roger A. Pierson<sup>e</sup>, and Gregg P. Adams<sup>f,2</sup>



# Molecola che induce l'ovulazione (OIF) presente nel PS



*Ratto et al. 2012*

Nel plasma seminale (lama) (A), le sequenze di amminoacidi del fattore di induzione dell'ovulazione (OIF) sono omologhe alle sequenze di NGF suino, bovino, murino (B) e umano (C).



# NGF/OIF nel coniglio

Stimolazione meccanica (IA)

Accoppiamento



Picco LH ed ovulazione



Non sempre induce  
l'ovulazione

E' forse presente/necessario un  
OIF nel plasma seminale oltre allo  
stimolo meccanico?



# PS di coniglio i.m.

Tasso di ovulazione molto elevato rispetto alla somministrazione di plasma seminale bovino, suino ed equino

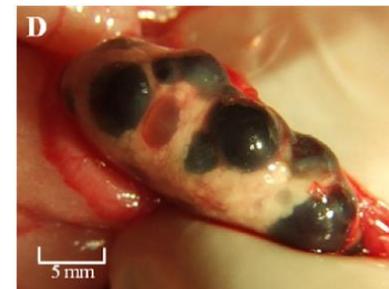
Lama

Alta concentrazione di OIF/NGF nel coniglio?

Forme più attive?

Coniglio

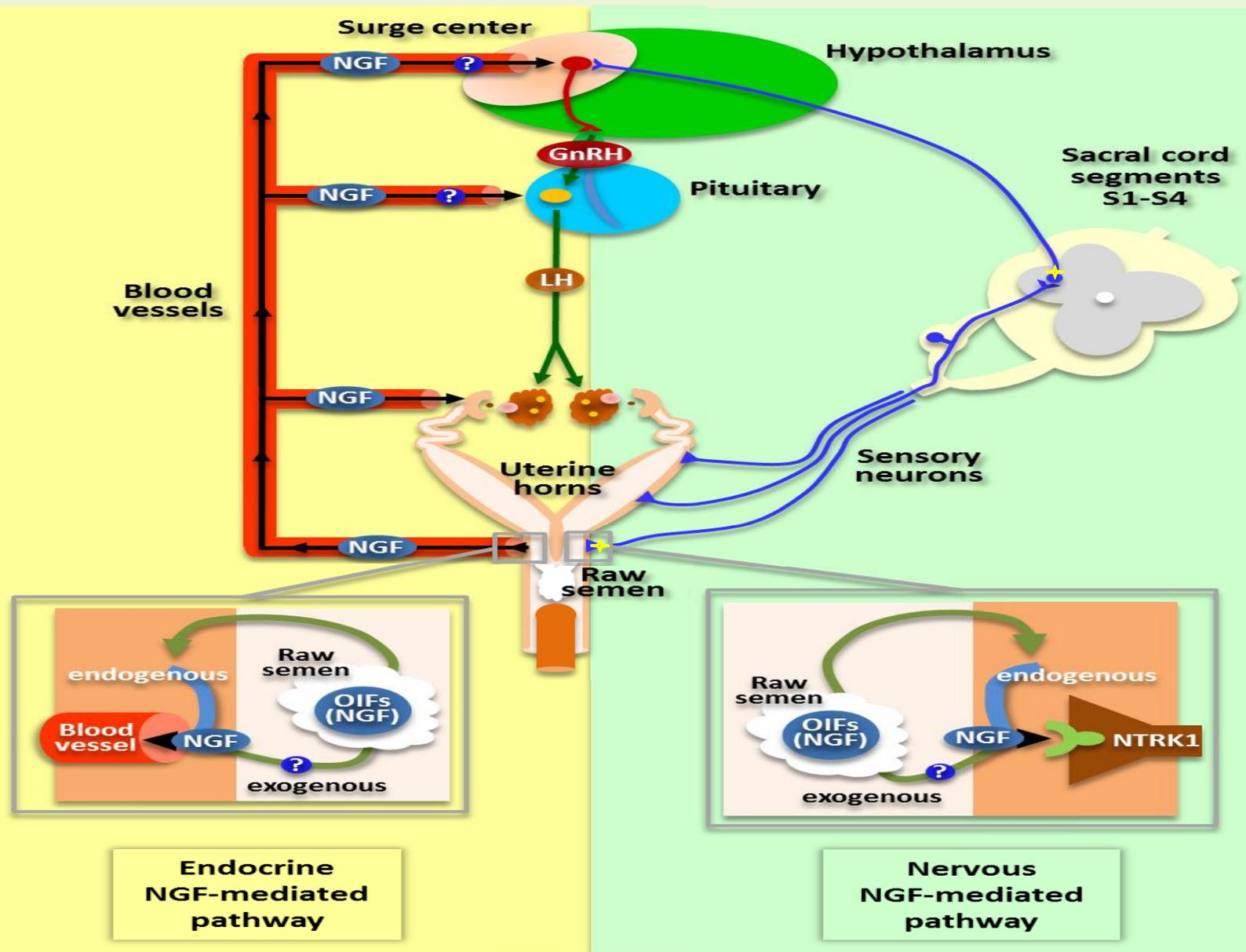
Llama SP (i.m.)



Nessun rilascio di LH, né ovulazione, formazione di follicoli emorragici non-ovulatori

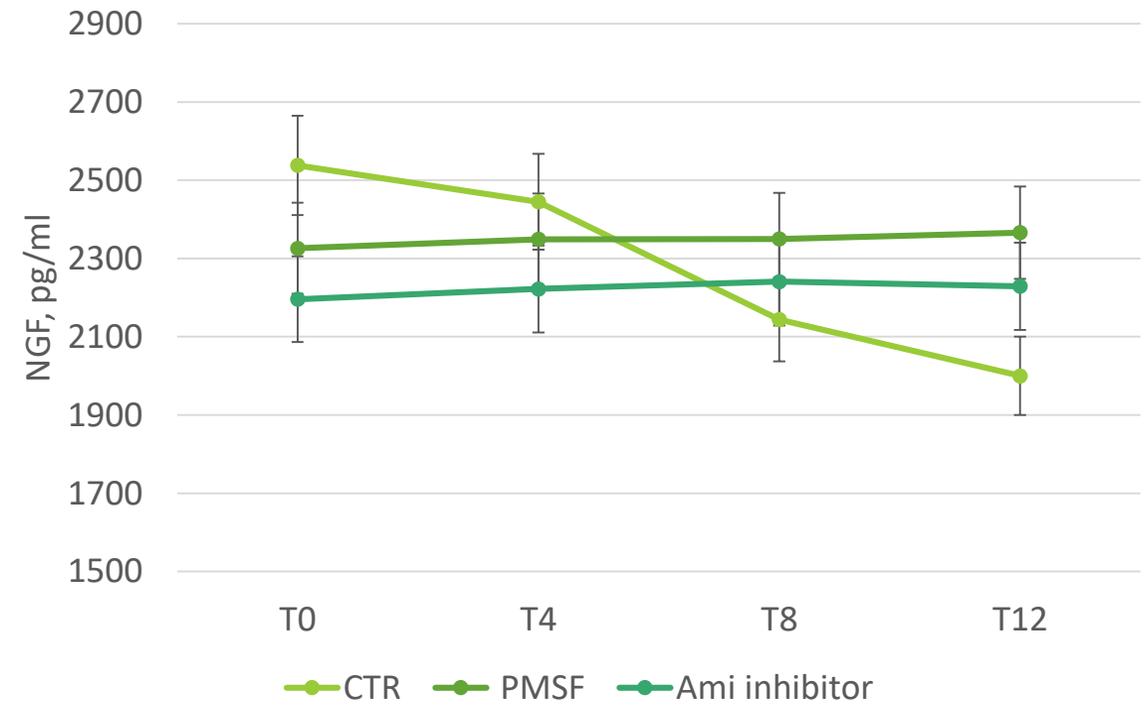
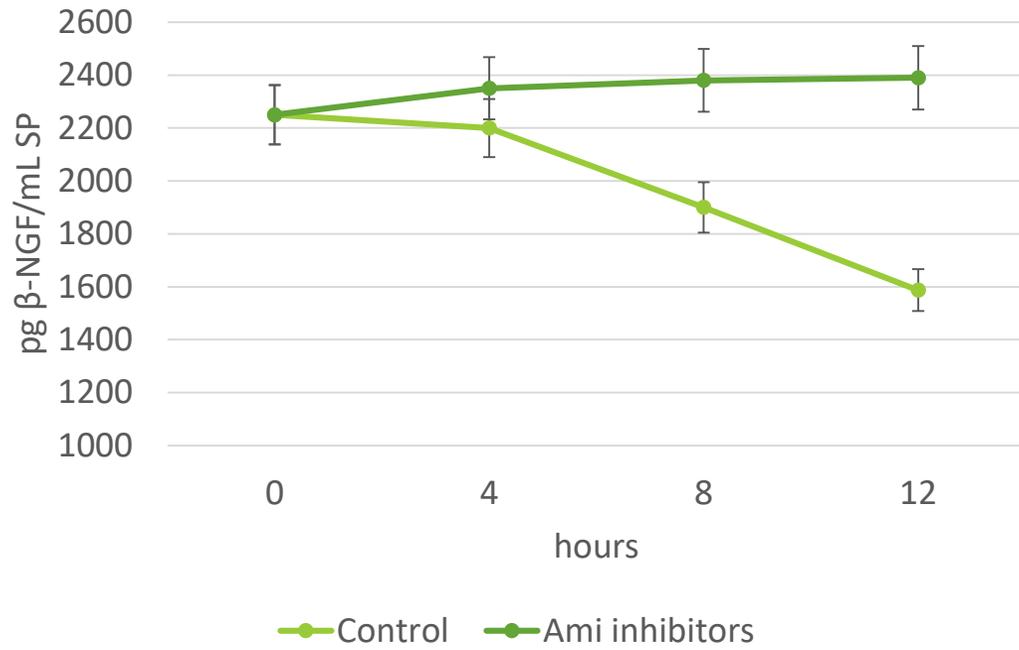
García-García et al. (2017)

# Cooperazione di due meccanismi complementari per l'induzione dell'ovulazione nei conigli non accoppiati



# Degradazione dell' NGF, simile a quella degli analoghi del GnRH?

alternative agli ormoni

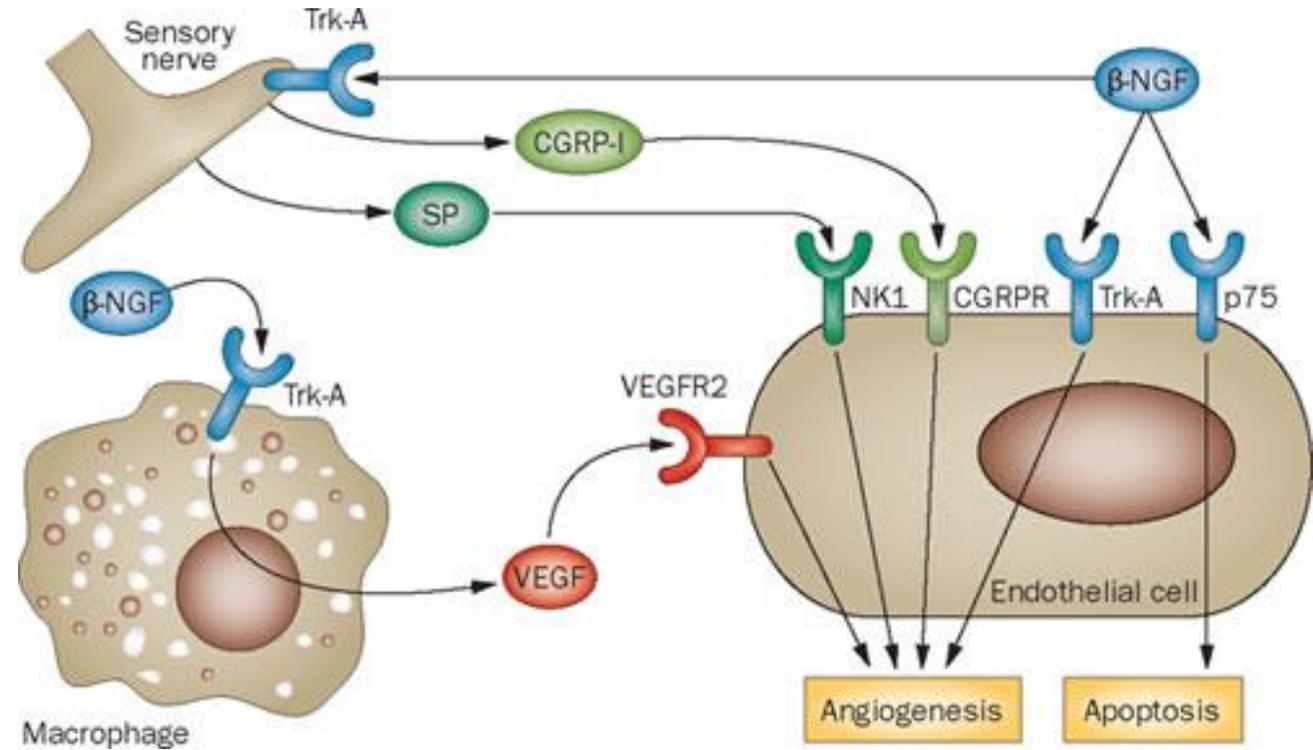


Casares-Crespo et al., 2018; inhibitor: 10 ng/ml

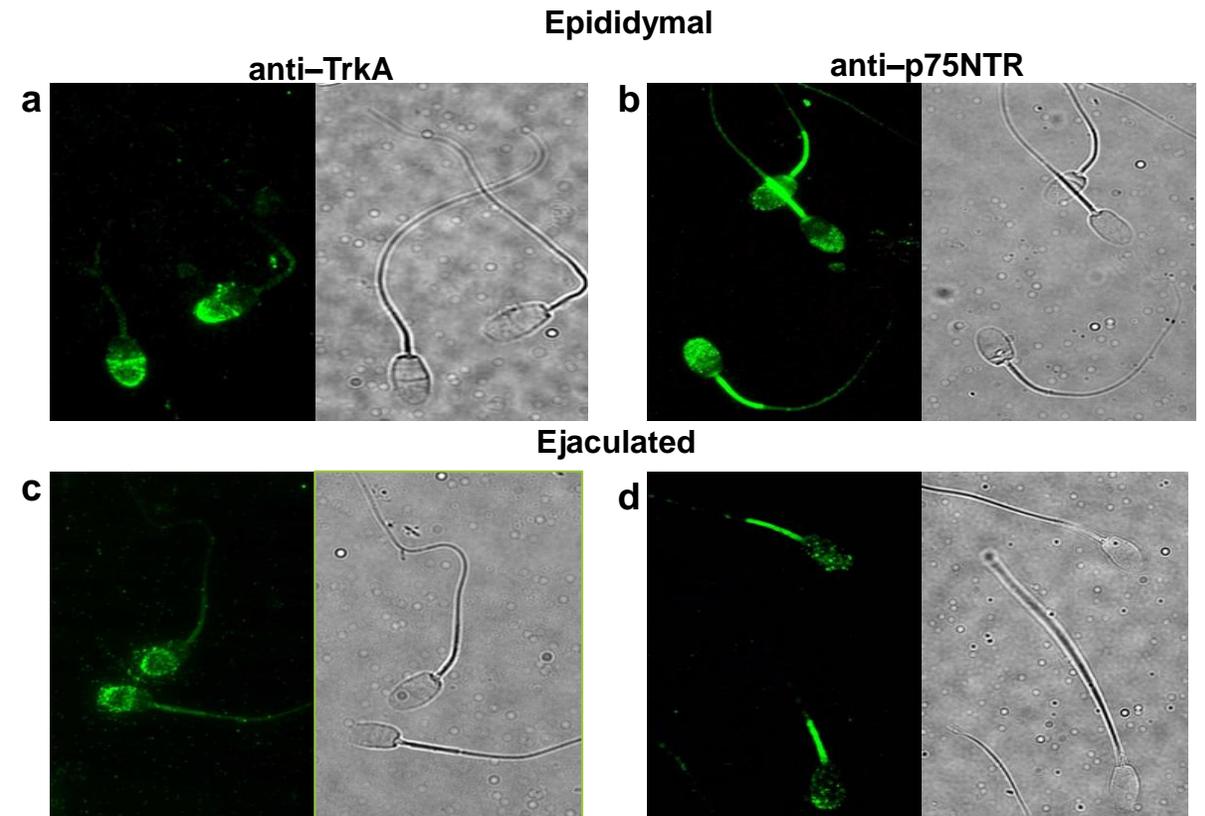
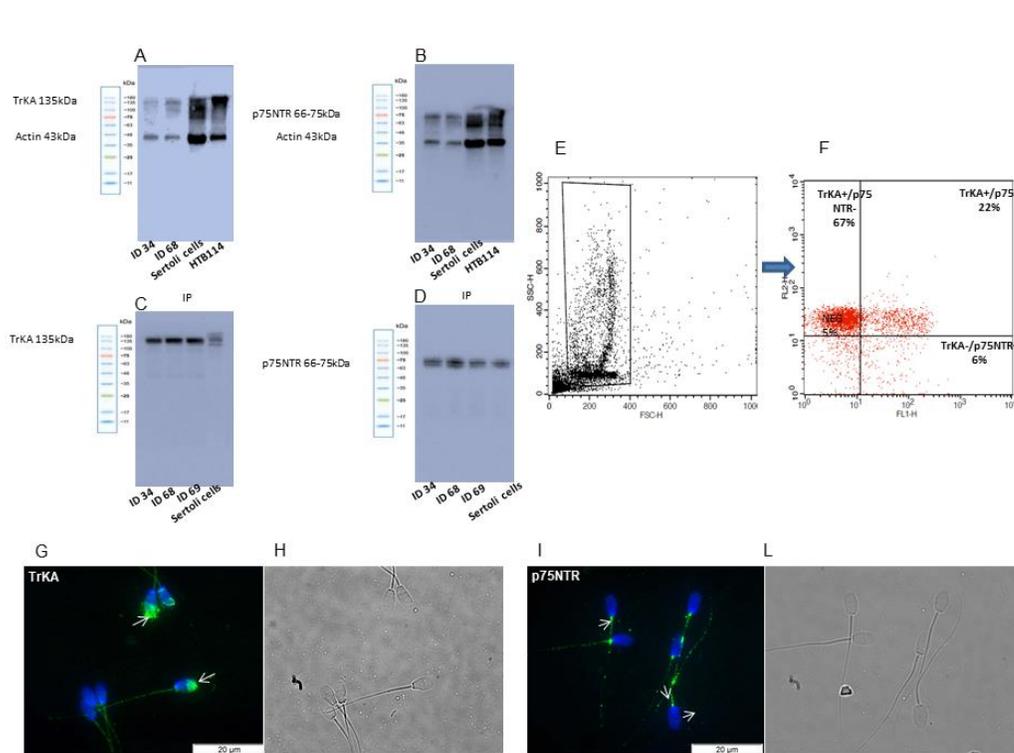
Unpublished data: Inhibitor Ami, 10 ng/ml; PMSF, 1%

# Ruolo dei recettori del $\beta$ -NGF (TrkA e p75NTR)

Castellini, C., Mattioli, S., Dal Bosco, A., Collodel, G., Pistilli, A., Stabile, A. M., ... & Rende, M. (2019). In vitro effect of nerve growth factor on the main traits of rabbit sperm. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 17(1), 1-11.

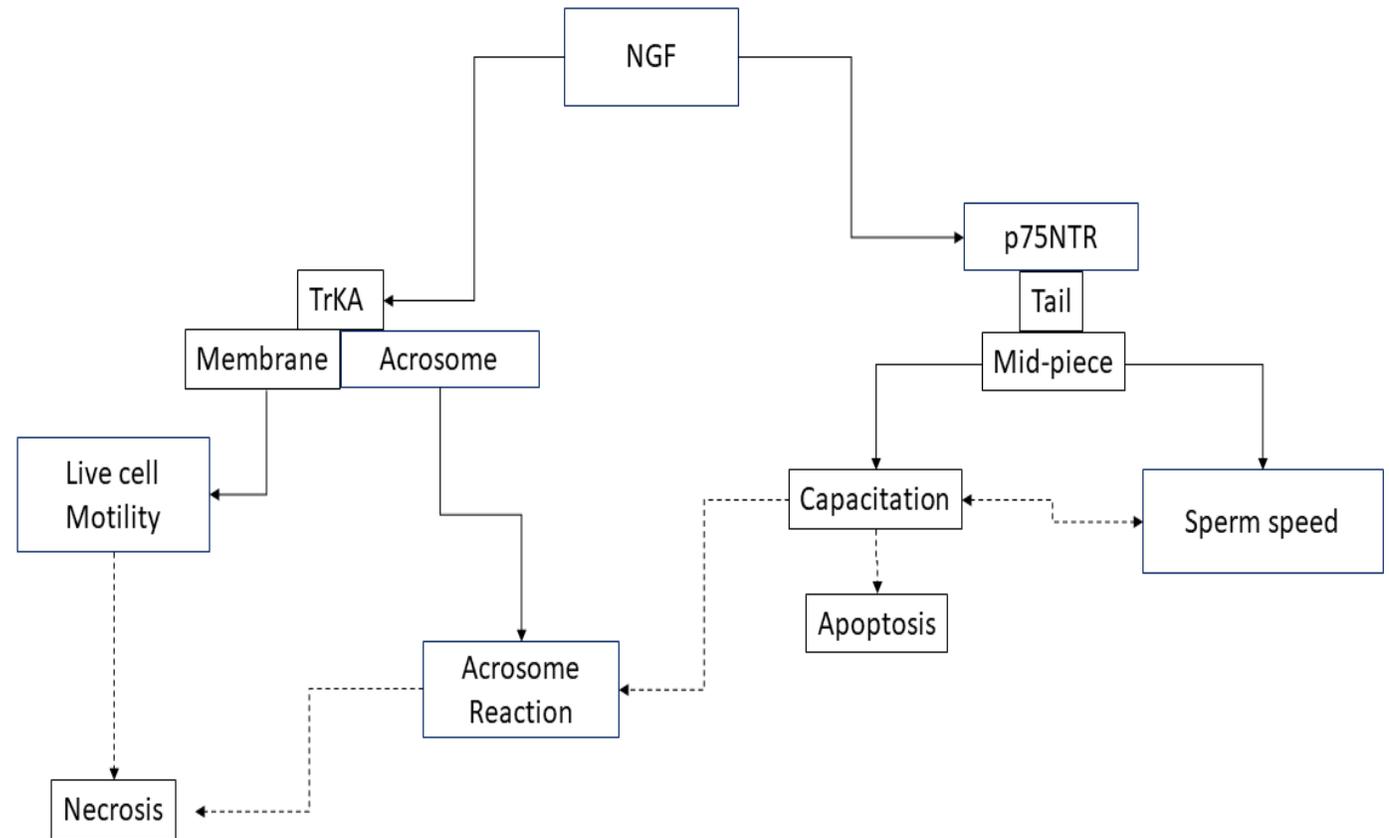


# Presenza e distribuzione dei recettori del NGF negli spermatozi epididimali ed eiaculati



# Caratteristiche degli spermatozoi e NGF

*(Castellini et al., 2020 - How does NGF affect sperm storage? Role of NGF-receptor interactions in rabbit sperm, Theriogenology)*

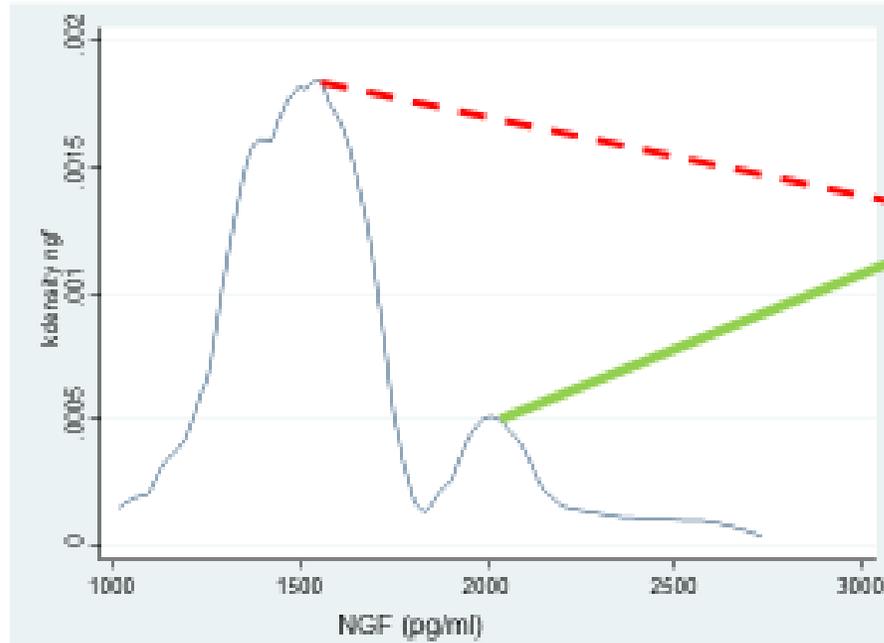


## IMPLICATIONS

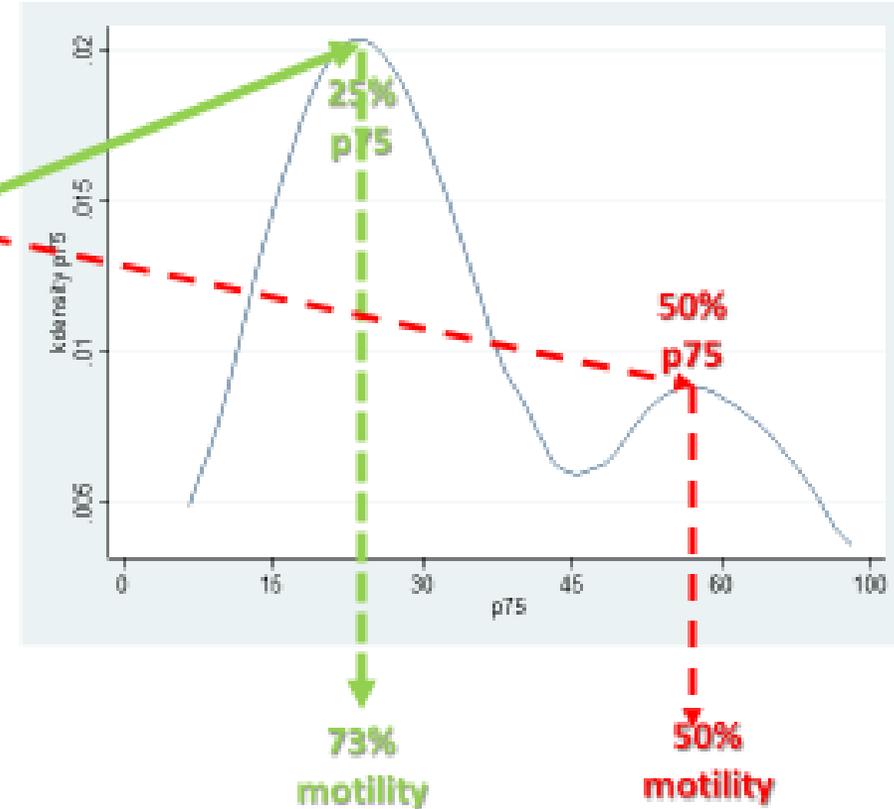
L'aggiunta di NGF alla dose seminale avrebbe un effetto positivo sulla partica di IA negli allevamenti e potrebbe essere più fisiologico per gli animali (no trattamenti ormonali)

# Bimodal distribution

Distribuzione dell' NGF seminale



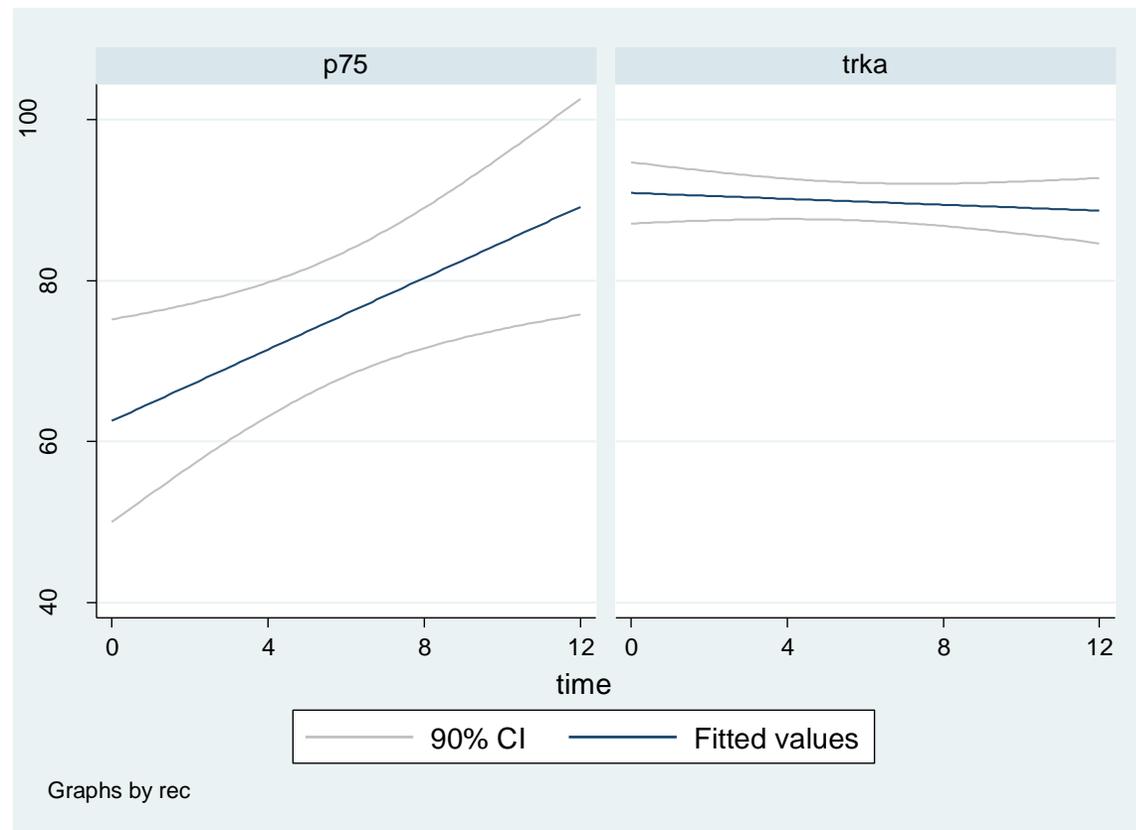
Distribuzione dei recettori

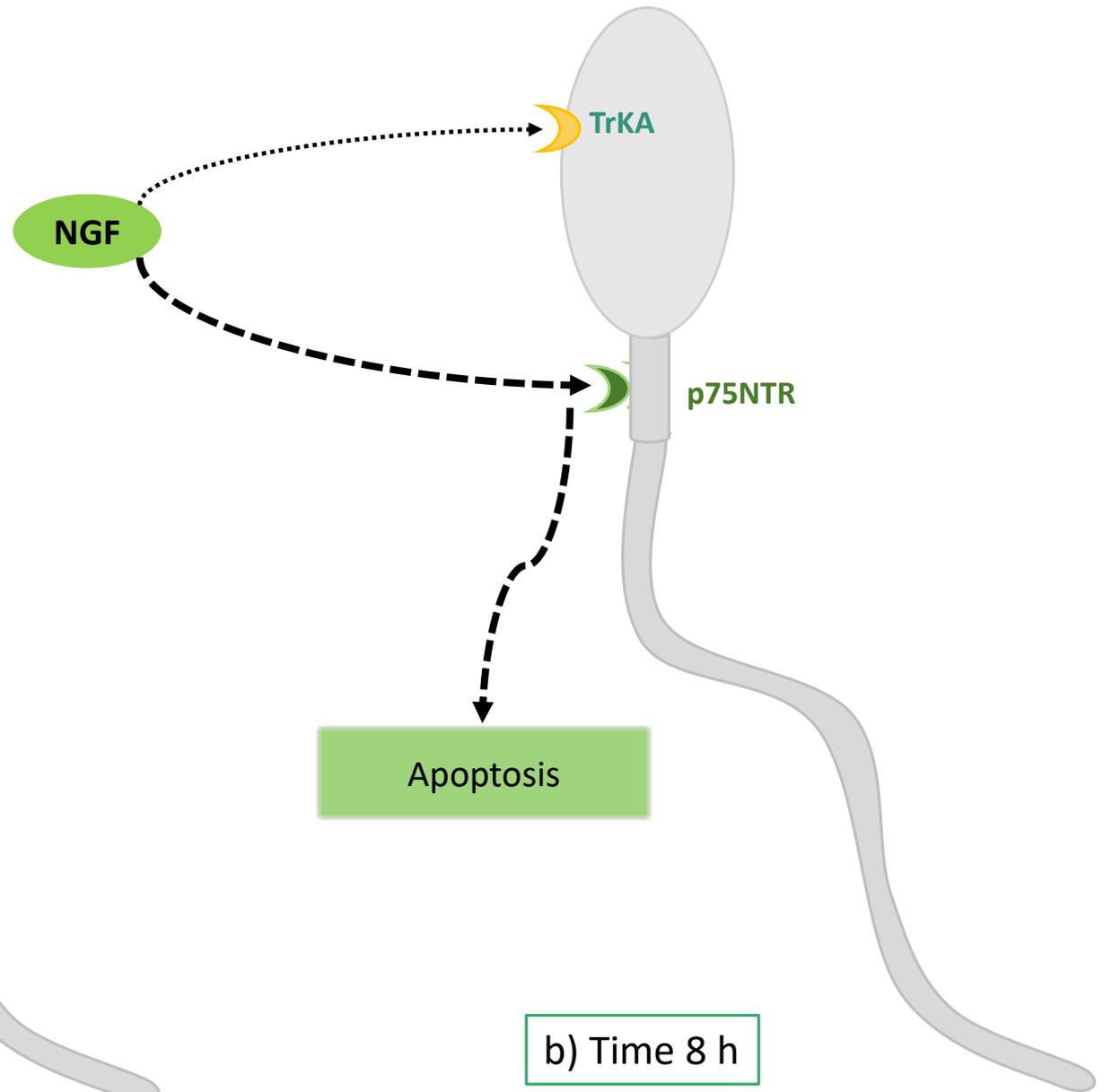
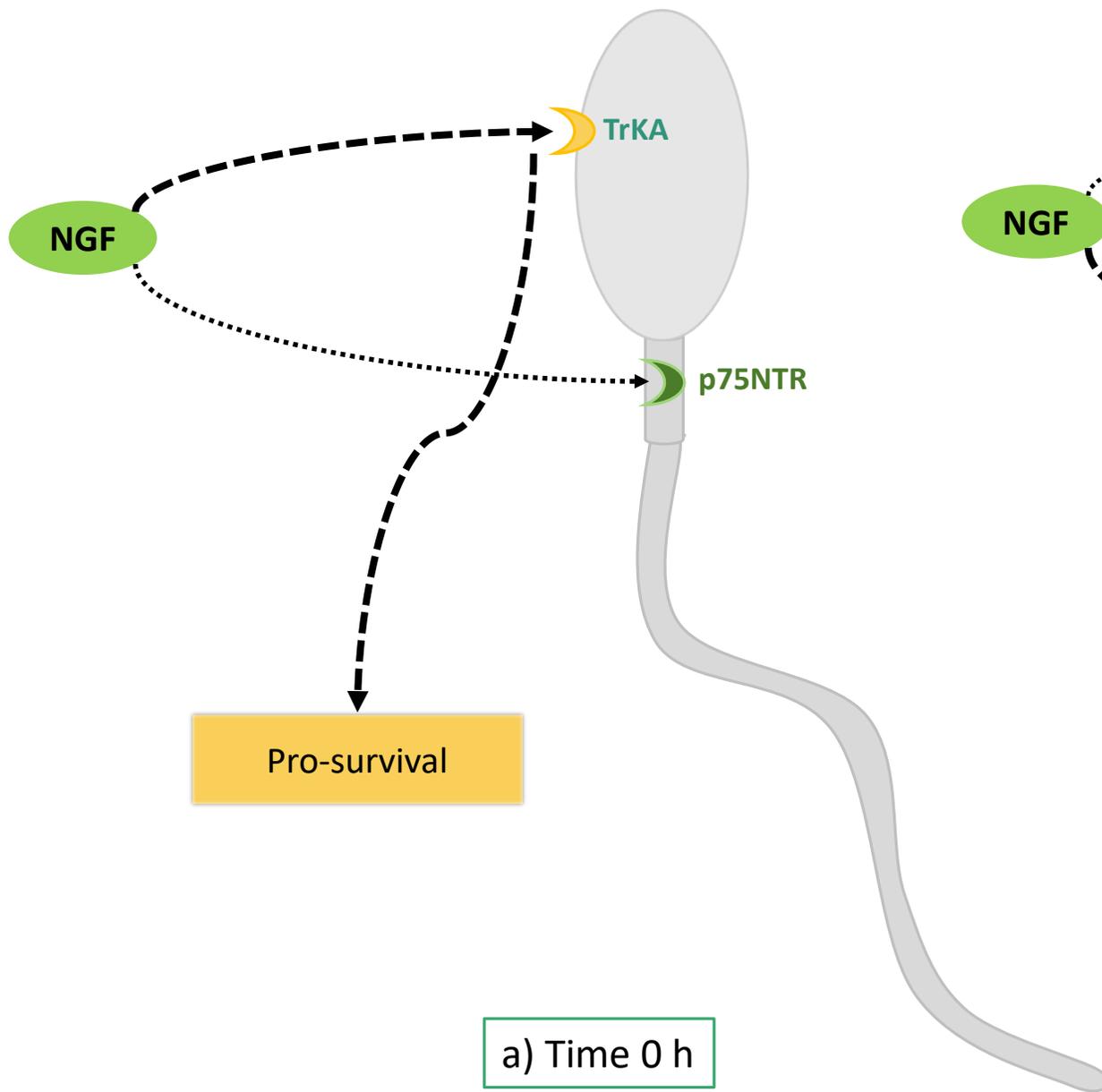


# Andamento dei recettori dell' NGF nel tempo

Hour of storage	TrkA	p75NTR	TrkA/p75NTR
baseline	89.30	21.83 <sub>a</sub>	4.09 <sub>a</sub>
4	88.30	21.64 <sub>a</sub>	4.09 <sub>a</sub>
8	89.47	34.31 <sub>b</sub>	<b>2.60<sub>b</sub></b>
12	90.12	34.00 <sub>b</sub>	<b>2.65<sub>b</sub></b>

# Esternalizzazione dei recettori







# Grazie dell'attenzione



Prof. Cesare  
Castellini



Prof. Alessandro  
Dal Bosco



Dr. Simona  
Mattioli



Dr. Elisa  
Cotozzolo



Tesisti: Luigia Bosa



Prof.  
Mario Rende



Dr. Alessandra  
Pistilli



Dr. Anna  
Maria Stabile



Dr. Gabriele  
Di Sante



Prof. Pilar Garcia Rebollar  
Prof. Rosa Maria Garcia-Garcia  
Prof. Maria Arias-Alvarez  
Prof. Pedro L. Lorenzo



Prof. Cristiano  
Boiti



Prof. Massimo  
Zerani



Dr. Margherita  
Maranesi



Prof. Francesco  
Parillo



Dr. Linda  
Petrucci



Dr. Polina  
Anipchenkoi

1. Eiben Cs., Sándor M., Sándor F., Mohaupt M., Kustos K. (Hungary) - Effect of short fast-refeeding and light program on rabbit doe reproduction.
2. García M.L., Peiró R., Agea I., Argente M.J. (Spain) - Study of body condition, energy mobilization and leptin profile in reproductive females.
3. Guillevic M., Minetto A., Prigent A. Y., Colin M. (France) - Effects of the increase of the feed alpha-linolenic acid level on the performances of reproduction of the rabbit does.
4. Khaldoun Oularbi H., Makhlof C., Bokreta S, Settari A., Tarzali D., Zitouni G., Hamadou D., Kais S., Daoudi-Zerrouki N. (Algeria) – Ampligo insecticide induces injuries on the testes of rabbit *Oryctolagus cuniculus*: alleviating effects of vitamins C and E (ascorbate / $\alpha$ -tocopherol).
5. Gerencsér Zs., Kasza R., Radnai I., Matics Zs., Dalle Zotte A., Cullere M., Szendrő Zs. (Hungary) - Effect of drinking water cooling on the reproductive performance of rabbit does housed under high ambient temperature.
6. Kasza R., Szendrő Zs., Donkó T., Nagy I., Gerencsér Zs Radnai I, Dalle Zotte A., Cullere M., Matics Zs. (Hungary) - Effects of different environmental temperatures on the reproductive performance of rabbit does divergently selected for total body fat content.
7. Anoh K. U. (Nigeria) - The influence of organic and synthetic antioxidant on the reproductive performance of heat stressed rabbit under tropical condition of Nigeria.
8. Vasallo G.E., Sarduy Lucia., Herrera Magaly (Cuba) - Effect of reproductive condition and season on productive performance of female rabbits.
9. Nabi Ibrahim, Fatmi Sofiane, Iguer-Ouada Mokrane (Algeria) - Interests to supplement tris-base extender with cholesterol /  $\alpha$ -tocopherol preloaded in cyclodextrins and vitamin-C to chill rabbit semen at 4°C.
10. Rouillon C., Camugli S., Carion O., Echegaray A., Delhomme G., Schmitt E. (France) – Development of a new antibiotic composition for a rabbit semen dilution medium (Galap®).
11. Wang Fupeng, Wu Yingjie, Qin Yinghe (China) - Cryopreservation of rabbit sperm using dimethyl sulfoxide in combination with trehalose and hyaluronic acid.
12. Savietto D., Debrusse A.M., Bonnemère J.M., Labatut D., Aymard P., Combes S., FortunLamothe L., Gunia M. (France) – Reproductive performance of a maternal rabbit cross: Fauvede-Bourgogne  $\times$  INRA-1777.
13. Machado L. C., Faria C. G. S., Zeferino C. P., Castilha L. D., Silveira J. M. M., Silva V. G. P., Pereira D. L. (Brazil) - Productive, reproductive, behavioral and sanitary aspects of rabbit does from different genotypes.
14. Cherfaoui-Yami D., Berchiche M., Lebas F. (Algeria) - Influence of male on reproductive performance of Algerian local population rabbit.
15. Villamayor P.R., Gullón J., Vilá M., Yáñez U., Aramburu O., Sánchez M., Sánchez-Quinteiro P., Martínez P., Quintela L. (Spain) - Preliminary report of potential biostimulation methods based on chemical communication in rabbit doe reproduction.

N=5 FEEDING  
MANAGEMENT/Q  
UALITY

N= 4 STRATEGIES  
AGAINST HS

N=3 DILUTION  
MEDIUM

N=3 GENETIC

N=1 OVULATION  
INDUCTION  
STRATEGIES

# Interazione NGF-rceettori: ruolo nella capacitazione e nella vitalità

	CP %	AR %	IC %	Apoptosi %	Necrosi %	Cellule vitali %
<b>C</b>	14.2 b	5.0 bc	80.8b	7.8 ab	5.0 b	87.2 a
<b>NGF</b>	16.3 c	6.3 c	77.4a	7.0 a	3.8 a	91.0 b
<b>NGF+aTrKA</b>	<b>14.5 b</b>	2.5 a	83.0b	<b>9.5 b</b>	5.5 b	85.0 a
<b>NGF+ap75NTR</b>	11.4 a	4.3 b	<b>84.3b</b>	6.0 a	4.4 a	89.7 ab

CP: Capacitated  
AR: acrosome reacted  
IC: intact sperm

 Via p75NTR

 Via TrKA