Influenza del tenore proteico della dieta sul livello ematico di urea, sul pH uterino e sull'efficienza riproduttiva di coniglie in lattazione

Marongiu M.L.¹, Gulinati A.²

¹Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università di Sassari, Italy

²Medico Chirurgo, Sassari, Italy

Corresponding Author: Maria Laura Marongiu, Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università di Sassari, Via De Nicola 9, 07100 Sassari (SS), Italy - Tel. +39 079 229304 - Email: marongiu@uniss.it

ABSTRACT: Influence of dietary protein on blood urea level, uterine pH and reproductive performance of lactating rabbit does. The effect of dietary protein level on uterine pH, plasma urea nitrogen concentrations (PUN) and reproduction efficiency was assessed through a trial involving 50 multiparous hybrid rabbit does. At day 27 of pregnancy, the animals were equally divided into 2 experimental groups fed on mixture at different protein levels: 18.5% (CP18.5=25) and 22% (CP22=25) on dry matter. Blood samples (=50) were taken at the same day of AI (12 days *post partum*) and plasma was assayed for PUN. Measurements of uterine pH (=50) were accomplished at day 12 *post partum* by inserting a microelectrode through the genital tract. Reproduction efficiency was evaluated by abdominal palpation 12 days after AI to determine the pregnancy rate (PR). CP22 rabbits exhibited significantly higher PUN levels and decreased uterine pH values compared to CP18.5 (35.1 vs 24.9 mg/dl, $P<0.01$; 7.3 vs 6.7 pH units, $P<0.05$), associated with reduced fertility: PR increased when does were fed a diet not exceeding in protein content (79.3 vs 69.8 % for CP18.5 vs CP22; $P<0.01$). The results indicate that high dietary CP may exert an adverse effect on reproduction efficiency by elevating PUN levels and altering the uterine environment in the lactating rabbit doe. Further research is needed to understand whether the reduction in uterine pH is mediated via ammonia, urea or some other factor. The benefits of feeding excess dietary protein to sustain optimum milk production and simultaneous pregnancy in female rabbits should be compared with potential negative effects on fertility before such a program is implemented.

Key words: Protein nutrition, Uterine pH, Conception rate, Lactating rabbit.

INTRODUZIONE – Le ricerche relative ai fabbisogni nutritivi ed energetici delle coniglie fattrici hanno avuto un forte impulso negli ultimi anni, in risposta all'affermarsi di piani riproduttivi intensivi e all'utilizzazione di fattrici di elevata prolificità e capacità di allattamento. Dalla letteratura si evince, per contro, una limitata conoscenza delle conseguenze derivanti da diete con livelli proteici particolarmente elevati rispetto agli effettivi fabbisogni per la gravidanza e la lattazione, sulle prestazioni riproduttive delle fattrici. Scopo del presente lavoro è stato quindi quello di studiare l'influenza del tenore proteico della razione su possibili alterazioni dell'ambiente uterino, sul profilo ematico dell'urea e sull'efficienza riproduttiva nella coniglia in lattazione.

MATERIALI E METODI – La sperimentazione è stata condotta utilizzando 50 coniglie ibride (Martini) pluripare e al medesimo stadio di gravidanza. A partire dal 27°

giorno di gestazione i soggetti sono stati suddivisi in 2 gruppi sperimentali omogenei che differivano per la razione costituita da mangimi a diverso livello proteico: 18,5% (gruppo PG18,5=25) e 22% (gruppo PG22=25) sulla sostanza secca. Le diete erano isoenergetiche e bilanciate per gli aminoacidi. I prelievi ematici (=50) per il dosaggio dell'urea plasmatica (PUN) sono stati effettuati il medesimo giorno dell'IA (12 giorni dopo il parto). Sul plasma è stata determinata la PUN tramite il metodo che combina ureasi, nitro prussiato, EDTA e salicilato con formazione di 2-2 dicarbossi-indofenolo. La misurazione del pH uterino è stata effettuata lo stesso giorno dei prelievi ematici per il dosaggio dell'urea, inserendo nel tratto genitale un microelettrodo flessibile fatto transitare all'interno di una pipetta sterile di plastica, lunga 30 cm. L'elettrodo veniva lasciato *in situ* sino ad ottenere una lettura del pH stabile (in genere da 0,5 a 1,5 minuti). Un elettrodo di riferimento, del tipo Ag-AgCl è stato inoltre posizionato sul fianco, preventivamente rasato, delle coniglie. La diagnosi di gravidanza veniva effettuata tramite palpazione addominale 12 giorni dopo ciascuna inseminazione al fine di definire il tasso di concepimento, rappresentato dalla percentuale di fattrici risultate positive alla palpazione sul totale delle fattrici inseminate. L'elaborazione statistica dei dati è stata eseguita mediante l'analisi della varianza con il metodo dei minimi quadrati LSM utilizzando il procedimento GLM del pacchetto statistico SAS (2000) e considerando come fattore principale l'effetto del livello proteico della razione.

RISULTATI E CONCLUSIONI – Gli effetti dei due differenti livelli proteici della razione sul profilo ematico dell'urea, sul pH uterino e sul tasso di concepimento sono sintetizzati nella tabella 1. Le coniglie alimentate con la dieta caratterizzata da un più elevato tenore proteico (PG22) hanno evidenziato, il giorno dell'IA, una concentrazione ematica di urea significativamente più elevata rispetto alle coniglie del gruppo sperimentale PG18,5 (35,1 vs 24,9 mg/dl; $P<0,01$). La misurazione del pH ha rivelato una probabile alterazione del microambiente uterino associata all'integrazione proteica elevata. I valori del pH sono risultati significativamente più bassi nelle coniglie PG22 se confrontati con quelli relativi al gruppo PG18,5 (6,7 vs 7,3; $P<0,05$).

Tabella 1 – Effetto dei due differenti livelli proteici (18,5 e 22%) della razione sulle concentrazioni ematiche dell'urea, sul pH uterino e sul tasso di concepimento.

Parametri	PG18,5 (=25)	PG22 (=25)	Prob	RMSE
PUN (mg/dl)	24,9	35,1	<0,01	3,8
pH uterino (unità pH)	7,3	6,7	<0,05	1,1
Tasso di concepimento (%)	79,3	69,8	<0,01	4,3

Per quanto concerne il confronto tra i due gruppi sull'efficienza riproduttiva, i valori del tasso di concepimento sono apparsi inversamente proporzionali a quelli del parametro ematico-metabolico. Difatti, le coniglie PG18,5, caratterizzate da minori concentrazioni di PUN, hanno dimostrato una migliore efficienza riproduttiva con un tasso di concepimento significativamente più elevato rispetto alle coniglie PG22 (79,3 vs 69,8%; $P<0,01$).

Secondo Elrod *et al.* (1993), le alterazioni del pH uterino riscontrate in bovine alimentate con diete ad elevata densità proteica, potrebbero suggerire un effetto dei metaboliti della frazione proteica alimentare sui meccanismi deputati a regolare la composizione dei fluidi uterini. Il concepimento e lo stabilirsi della gravidanza

rappresentano una progressione ordinata di eventi che agiscono in interrelazione coinvolgendo tutti i diversi tessuti del tratto riproduttivo: lo sviluppo follicolare esita nell'ovulazione, fertilizzazione dell'ocita, trasporto dell'embrione e suo sviluppo, riconoscimento materno ed impianto. L'ammoniaca, l'urea ed anche altri prodotti del metabolismo proteico potrebbero interferire in uno o più di questi passaggi, influenzando negativamente l'efficienza riproduttiva. L'ammoniaca difatti, in quanto sostanza tossica di scarto, viene elaborata a livello epatico e trasformata in urea per essere così eliminata con le urine. Questo processo fisiologico può venir inficiato da un eccesso proteico della dieta, in quanto il fegato rallenta il suo ciclo, con conseguenti problemi epatici temporanei, che vanno ad incidere su tutte le altre funzioni essenziali (a cominciare dall'attività renale), causando anche la messa in circolo di sostanza tossiche nel sangue (l'ammoniaca stessa) e proteine in eccesso che potrebbero danneggiare più o meno pesantemente l'embrione, il feto o anche solo la possibilità di concepimento. Il materiale seminale utilizzato per l'IA nella presente prova sperimentale aveva in media un pH pari a 7,2, quindi non dissimile a quello che viene considerato il valore di riferimento del seme fresco di coniglio (7,1) (Dal Bosco, 2008). Considerando quanto sia indispensabile ai fini del concepimento che il tratto genitale presenti determinate caratteristiche, si può ipotizzare che il pH uterino più basso delle coniglie alimentate con alti livelli proteici sia meno rispondente alle esigenze vitali dei nemaspermi. Ulteriori ricerche si rendono comunque necessarie ai fini di comprendere se la riduzione del pH uterino sia mediata via ammoniaca, urea o altri fattori. In una precedente pubblicazione (Marongiu e Gulinati, 2010), è stato dimostrato come un'eccessiva ingestione proteica interferisca significativamente sul numero dei follicoli ovarici di grandi dimensioni. Dal momento che tali strutture sono attive dal punto di vista della steroidogenesi e che il 17 β -estradiolo rappresenta il principale fattore luteotropo nella coniglia, un tenore proteico della dieta troppo elevato potrebbe intervenire sull'efficienza riproduttiva anche tramite un impoverimento dell'attività ovarica. Variazioni dell'ambiente intrauterino che sono associate a diete a forte densità proteica ed elevati livelli di urea ematica, possono risultare deleterie per gli embrioni. Cellule endometriali in coltura rispondono direttamente a concentrazioni crescenti di urea con alterazioni del pH ma soprattutto con un'augmentata secrezione di PGF_{2 α} (Butler, 1998). Un eccesso di PGF_{2 α} può interferire notevolmente sullo sviluppo e sulla sopravvivenza embrionale, fornendo quindi una correlazione plausibile tra gli alti livelli di urea plasmatica ed un peggioramento del tasso di concepimento riscontrato nella presente prova sperimentale. In conclusione, un'integrazione proteica della dieta particolarmente elevata rispetto agli effettivi fabbisogni derivanti dalla lattazione e dalla gravidanza, può determinare conseguenze negative sull'efficienza riproduttiva delle coniglie, aumentando le concentrazioni ematiche di urea ed alterando il microambiente uterino.

BIBLIOGRAFIA – Butler, W.R., 1998. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81:2533-2539. Dal Bosco, A., 2008. Allevamento dei riproduttori. In: *Avicoltura e Coniglicoltura*, Le Point Vétérinaire, Milano, Italia, pp. 441-457. Elrod, C.C., Van Amburgh, M., Butler, W.R., 1993. Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim. Sci.* 71:702-706. Marongiu, M.L., Gulinati, A., 2010. Ultrasound-assessed ovarian dynamics and pregnancy rates in lactating rabbit does with different protein supplementation. *Reprod. Dom. Anim.* 45(Suppl. S3):109. SAS, 2000. User's guide: Statistics, Version 6.03. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.