

Il materiale seminale dei verri ANAS

Qualità funzionale e sanitaria al servizio del progresso genetico

La distribuzione del materiale seminale dei verri è indispensabile per l'attuazione dei programmi genetici (creazione connessioni genetiche tra allevamenti iscritti al Libro genealogico, produzione di progenie di razza pura migliorata) e per il trasferimento tempestivo e diffuso agli allevamenti utilizzatori dei risultati della selezione.

Il nuovo Centro di produzione seme ANAS ha quindi un ruolo molto importante per il continuo miglioramento delle tre razze del suino pesante DOP e per la riproduzione negli allevamenti aderenti al circuito delle DOP.

Come è risaputo nella specie suina si utilizza seme refrigerato, mentre è trascurabile il ricorso al seme congelato. I risultati riproduttivi con il seme refrigerato sono mediamente superiori ed il costo di produzione della dose è più contenuto. In particolare, i protocolli di produzione sono standardizzati, la conservazione a 15-16° C è più agevole rispetto a quella in azoto liquido, ed è più semplice l'utilizzo da parte dell'allevatore [1].

La qualità del seme dipende da numerosi fattori: a) l'animale (età, razza, stato di salute, stato nutrizionale, funzionalità endocrina, dimensioni testicolari, funzionalità delle ghiandole sessuali accessorie) b) la sua gestione (management, stabulazione, gestione dei fattori stressanti, stimolazione sessuale prima del prelievo, igiene ambientale, tecnica di prelievo) c) la manipolazione del materiale seminale stesso (stress termici, stress biochimici, meccanici e osmotici) [2].

Pertanto, non solo è fondamentale gestire correttamente gli animali impiegati nella produzione di materiale seminale, ma è altresì importante la valutazione, la manipolazione, la gestione e il mantenimento del materiale biologico nel corso di tutto il processo produttivo di ogni singolo lotto.

Nel progetto SUIS.2 (PSRN 10.2) ANAS ha previsto la raccolta di alcuni nuovi fenotipi, come le misure testicolari dei verri, la rilevazione di temperatura e umidità ambientale per verificare l'effetto sulla fertilità maschile e l'analisi dei dati di valutazione del seme per indagare le componenti genetiche ed ambientali.

PSRN-Biodiversità - Sottomisura 10.2

Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche in agricoltura 2020-2023

Avviso pubblico n° 0041184 del 20/12/2019 - Proposta n° 04250057629 del 27/05/2020

Efficienza riproduttiva maschile



- **Fertilità verri: Caratteristiche materiale seminale**
- **Informazioni fenotipiche apparato riproduttivo**



Matricola	Nome	D. Nascita	D. Entrata	D. Uscita								
L ITTO003334A F2	BUCINTORO-AT	19-08-2019	08-10-2020	- -								
Produzione Refrigerato												
Data Prelievo	Lotto	Volume Tamp.	Concen. Tamp.	Motilità	Agglut.	Teste	Code	Gocce	Sangue	Dosi	Azoos.	Rf. Salto
10-11-2020	315/2020	300	200	80	0	0	0	0	0	30	N	N
13-11-2020	318/2020	567	149	70	0	0	1	1	0	42	N	N
20-11-2020	325/2020	439	237	80	0	0	0	0	0	51	N	N
27-11-2020	332/2020	489	331	80	0	0	0	0	0	80	N	N
04-12-2020	339/2020	330	390	80	0	0	0	0	0	58	N	N

Di seguito si forniscono informazioni dettagliate sulle pratiche adottate da ANAS per assicurare l' idoneità del materiale seminale distribuito.

Caratteristiche funzionali delle dosi ANAS

Diluizione

Ogni singola dose di materiale seminale refrigerato è costituita da seme lavorato con tecnica definita "a caldo", ossia immediatamente dopo la raccolta e la valutazione; e un diluatore di ultima generazione ricostituito con acqua di grado II purificata.

Il *materiale seminale*, ossia il complesso di spermatozoi e plasma seminale proviene da verri appartenenti alle razze Duroc Italiana, Landrace Italiana o Large White Italiana, abilitati alla fecondazione artificiale e destinati all'impiego del circuito del disciplinare di prodotti DOP.

In particolare, ogni singola dose contiene spermatozoi con motilità totale superiore all' 80% e morfologia normale superiore al 75%, in accordo con quanto descritto in letteratura per lo standard della dose inseminante utile per l'inseminazione endo-cervicale e cervicale prossimale [3,4].

Il *diluatore* è un complesso di biomolecole che fungono da supporto energetico, mantengono costanti pH (compreso fra 6.9 e 7.4) e osmolarità (290-340 mOsm) proteggendo così le membrane plasmatiche (quelle che rivestono integralmente la cellula spermatica), mitocondriali (presenti a livello del tratto intermedio della cellula) e acrosomiali (membrane contenenti acrosina, ialuronidasi e altri complessi enzimatici indispensabili per la fecondazione dell'ovocita). ANAS impiega un diluatore di ultima generazione certificato ISO 9001, che, grazie alla sua composizione biochimica permette di preservare la qualità delle dosi seminali fino a 7 giorni se conservate a temperature comprese 15-17 °C. L'utilizzo di diluitori di ultima generazione permette il

PSRN-Biodiversità - Sottomisura 10.2

Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche in agricoltura 2020-2023

Avviso pubblico n° 0041184 del 20/12/2019 - Proposta n° 04250057629 del 27/05/2020

mantenimento delle caratteristiche qualitative anche in presenza di sbalzi di temperatura tra i 10 e i 25°C. Ciò è particolarmente importante per prevenire o attenuare problemi causati da eventuali choc durante il trasporto dal laboratorio all'allevamento.

A livello biochimico, il diluente utilizzato contiene un complesso biologico purificato di origine vegetale. Questo favorisce la motilità degli spermatozoi, la penetrazione dell'ovocita e l'aumento del 6% del Fertility Rate (dato dal numero suinetti nati vivi e % parti) rispetto ad un diluente standard [5]. Inoltre la sua composizione molecolare conserva l'integrità della membrana cellulare (trasporto degli acidi grassi di membrana, maggior fluidità) e protegge le cellule spermatiche sia da variazioni di temperatura che da stress di tipo meccanico. Inoltre, sono presenti molecole di D-glucosio, zucchero maggiormente impiegato dalla cellula spermatica come substrato energetico.



Igiene

Il materiale seminale prodotto da animali sani e costantemente controllati dal punto di vista sanitario può essere definito sterile a livello epididimale [1]. Dal momento del prelievo in poi è soggetto a possibili contaminazioni batteriche ambientali (soprattutto *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* e *aureus*, *Proteus spp*, *Streptococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa*) che possono compromettere la motilità spermatica, l'integrità membranaria sia a livello plasmatico che acrosomiale, favorire integrazioni antigene-anticorpo e pertanto agglutinazioni spermatiche e rappresentare un possibile rischio biologico in grado di impattare sulle prestazioni riproduttive della scrofaia portando a riduzioni dal 6 al 12% del tasso di concepimento, traducibile in perdita di 2-3 suinetti per covata [6,7]. Pertanto, per garantire un'elevata qualità sanitaria e conservabilità delle dosi di materiale seminale contrastando la proliferazione batterica e la produzione di tossine batteriche lipopolisaccaridiche (LPS), all'interno del diluente è presente un complesso di molecole ad azione batteriostatica che, in accordo con le raccomandazioni europee non fanno parte della classe di antibiotici di nuova generazione.

Sempre con lo scopo di garantire un elevato livello di biosicurezza e igiene, l'acqua utilizzata per la preparazione del diluente e la pulizia della strumentazione è classificata come pura di tipo II. Questa viene

PSRN-Biodiversità - Sottomisura 10.2

Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche in agricoltura 2020-2023

Avviso pubblico n° 0041184 del 20/12/2019 - Proposta n° 04250057629 del 27/05/2020

filtrata quotidianamente attraverso un sistema di microfiltri e sterilizzata facendo uso di lampade a UV che inibiscono sia la proliferazione batterica che di micro-alghe. Questo permette non solo di standardizzare e garantire un elevato stato igienico-sanitario dell'acqua utilizzata, ma anche di ridurre l'eventuale impatto ambientale delle confezioni in plastica e il rischio di contaminazioni esterne al laboratorio per il mancato ricorso all'approvvigionamento di acqua sterile pre-imballata.

Confezioni e riduzione antimicrobici

La prevenzione dell'antibiotico resistenza impone un uso ridotto e consapevole di molecole antimicrobiche in tutte le fasi dell'allevamento. Nel caso delle dosi ANAS sono adottate soluzioni che assicurano un'azione batteriostatica soprattutto nei confronti dei ceppi microbiologici che hanno sviluppato resistenze agli antibiotici. Infatti, la dose viene confezionata in *cochette* costituite da un doppio film plastico di ultima generazione definito "*smart plastic*" e con all'interno un complesso ad azione batteriostatica. Questo materiale innovativo

controlla ulteriormente la possibile carica batterica. Le cellule batteriche sono rese maggiormente porose, sono inibite la capacità di utilizzo dei nutrienti e gli scambi di membrana, il processo di biosintesi degli acidi grassi e la capacità proliferativa, ed aumenta la suscettibilità alle molecole batteriostatiche presenti nel diluente (soprattutto nei confronti dei Gram-). Tra l'altro le *cochette* sono adatte a qualsiasi tipologia di catetere per inseminazione sia cervicale che post cervicale.

Livello sanitario

La gestione dei verri ha l'obiettivo di assicurare il miglior stato di salute e benessere ed impedire la diffusione delle più comuni patologie suine. Sono adottate severe misure di biosicurezza e rigorosi protocolli sanitari dall'allevamento di origine, alle quarantene ed ai locali verri in produzione. Inoltre, la qualifica sanitaria del materiale seminale in uscita è ulteriormente verificata e garantita da un costante monitoraggio per il virus della PRRS. Vengono svolti test molecolari (*Real Time PCR*) sia su matrici ematiche che seminali, presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna.

La tracciabilità della dose e del lotto di produzione

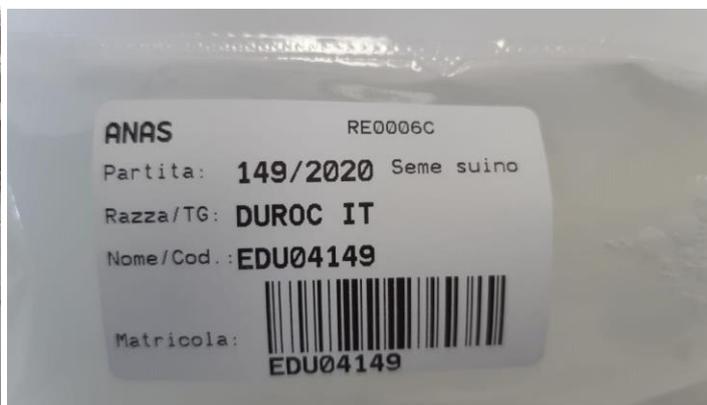
Le norme vigenti impongono la precisa identificazione di ogni dose. Le informazioni rese in modo trasparente sono necessarie agli allevatori ed in particolare a quelli aderenti ai circuiti DOP, che sono tenuti a comunicare agli Organismi di controllo l'origine genetica e l'identificativo dei verri utilizzati. ANAS assicura la chiara tracciabilità del prodotto distribuito. L'etichetta apposta sulle confezioni riporta le seguenti indicazioni: il Centro di raccolta seme (ANAS); il contenuto (seme suino); la razza a cui appartiene il seme confezionato; il nome del verro se si tratta di verri "Selezione", la matricola individuale del Libro genealogico e, nel caso di dosi eterospermiche (2 verri donatori) il codice del lotto eterospermico. Inoltre, le medesime informazioni sono

contenute in un codice a barre. Questa precisa identificazione delle dosi non richiede il ricorso all'uso di coloranti artificiali addizionati al seme che potrebbero comprometterne le caratteristiche.

PSRN-Biodiversità - Sottomisura 10.2

Sostegno per la conservazione, l'uso e lo sviluppo sostenibili delle risorse genetiche in agricoltura 2020-2023

Avviso pubblico n° 0041184 del 20/12/2019 - Proposta n° 04250057629 del 27/05/2020



Conclusioni

L'impegno di ANAS è assicurare che ogni allevatore italiano possa fruire dei progressi genetici realizzati, attraverso l'uso di materiale seminale di alta qualità funzionale e sanitaria. Le procedure, adottate per la gestione ed il controllo dei verri e delle varie fasi di lavorazione del materiale seminale fino alla consegna in allevamento, assicurano la distribuzione di un prodotto standardizzato e qualificato. L'uso delle dosi ANAS consente l'ottenimento di costanti e adeguate prestazioni riproduttive in allevamento.

Bibliografia

1. Bonet S, Casas I, Holt WV, Yeste M. Boar reproduction: fundamentals and new biotechnological trends. 2013th ed. Springer Science & Business Media;
2. Žaja IŽ, Samardžija M, Vince S, Majić-Balić I, Vilić M, Đuričić D, et al. Influence of boar breeds or hybrid genetic composition on semen quality and seminal plasma biochemical variables. Anim Reprod Sci. 2016;164: 169–176. doi:10.1016/j.anireprosci.2015.11.027
3. B. Hafez editor, E. S. E Hafez (Elsayed Saad Eldin) editor. Reproduction in farm animals. Seventh edition.. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
4. Brito LFC, Althouse GC, Aurich C, Chenoweth PJ, Eilts BE, Love CC, et al. Andrology laboratory review: Evaluation of sperm concentration. Theriogenology. 2016;85: 1507–1527. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.01.002
5. https://www.imv-technologies.com/products-lines/animal-insemination?category_level1=Swine
6. Kuster CE, Althouse GC. The impact of bacteriospermia on boar sperm storage and reproductive performance. Theriogenology. 2016;85: 21–26. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.09.049
7. Maroto Martín LO, Muñoz EC, De Cupere F, Van Driessche E, Echemendia-Blanco D, Rodríguez JMM, et al. Bacterial contamination of boar semen affects the litter size. Anim Reprod Sci. 2010;120: 95–104. doi:10.1016/j.anireprosci.2010.03.008