

FEASR – Programma di Sviluppo Rurale 2014-2020

MISURA 1. – “Trasferimento di conoscenze e azioni di informazione”

SOTTOMISURA 1.2 – “Sostegno a attività dimostrative e azioni di informazione”

OPERAZIONE 1.2.01 – “Progetti dimostrativi e azioni di informazione”

«Tecnologie Innovative nella Riproduzione Bovina e Suina per una nuova Redditività dell'allevamento Lombardo: Azioni Informative e Dimostrative»



In
collaborazione
con



MISURA 1. - "Trasferimento di conoscenze e azioni di informazione"-
SOTTOMISURA 1.2 - "Sostegno a attività dimostrative e azioni di informazione"
OPERAZIONE 1.2.01 - "Progetti dimostrativi e azioni di
informazione"

"Tecnologie innovative nella riproduzione bovina e suina per una nuova redditività dell'allevamento lombardo: azioni informative e dimostrative"

Responsabile del progetto: *Francesca Petrera*, CREA-Centro di Ricerca Zootecnia e Acquacoltura, Lodi
CONTATTI: francesca.petrera@crea.gov.it; www.crea.gov.it; tel: 0371 450104

Questa presentazione è stata realizzata dall'autore VALERIA BORNAGHI per gli allevatori, i tecnici e gli studenti degli ITAS della Regione Lombardia nell'ambito del progetto PSR NEW4REP. La stessa può essere utilizzata solo per scopi non commerciali e sempre citando l'autore e l'evento formativo per cui è stata prodotta. Sono vietati la riproduzione, distribuzione, pubblicazione, copia, trasmissione, adattamento ecc. dei contenuti della stessa, senza autorizzazione del responsabile.



PSR LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTE RADICI
2014 2020



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali



*«.....l'azione d'informazione è pensata affinché gli allevatori possano raggiungere la **massima consapevolezza in piena autonomia** su quanto è a loro disposizione per poter valutare se adottare o meno le soluzioni proposte in base alle singole esigenze.....»*



Gestione del verro: produzione e conservazione del seme suino fresco e congelato



Valeria Bornaghi
Istituto Spallanzani, Rivolta d'Adda (CR)

25 Ottobre 2018 - Area Forum
Fiere Zootecniche Internazionali di Cremona



Gestione del Verro

Il grado di benessere animale è proporzionale al livello di adattamento che gli animali hanno per l'ambiente nel quale sono costretti a vivere.

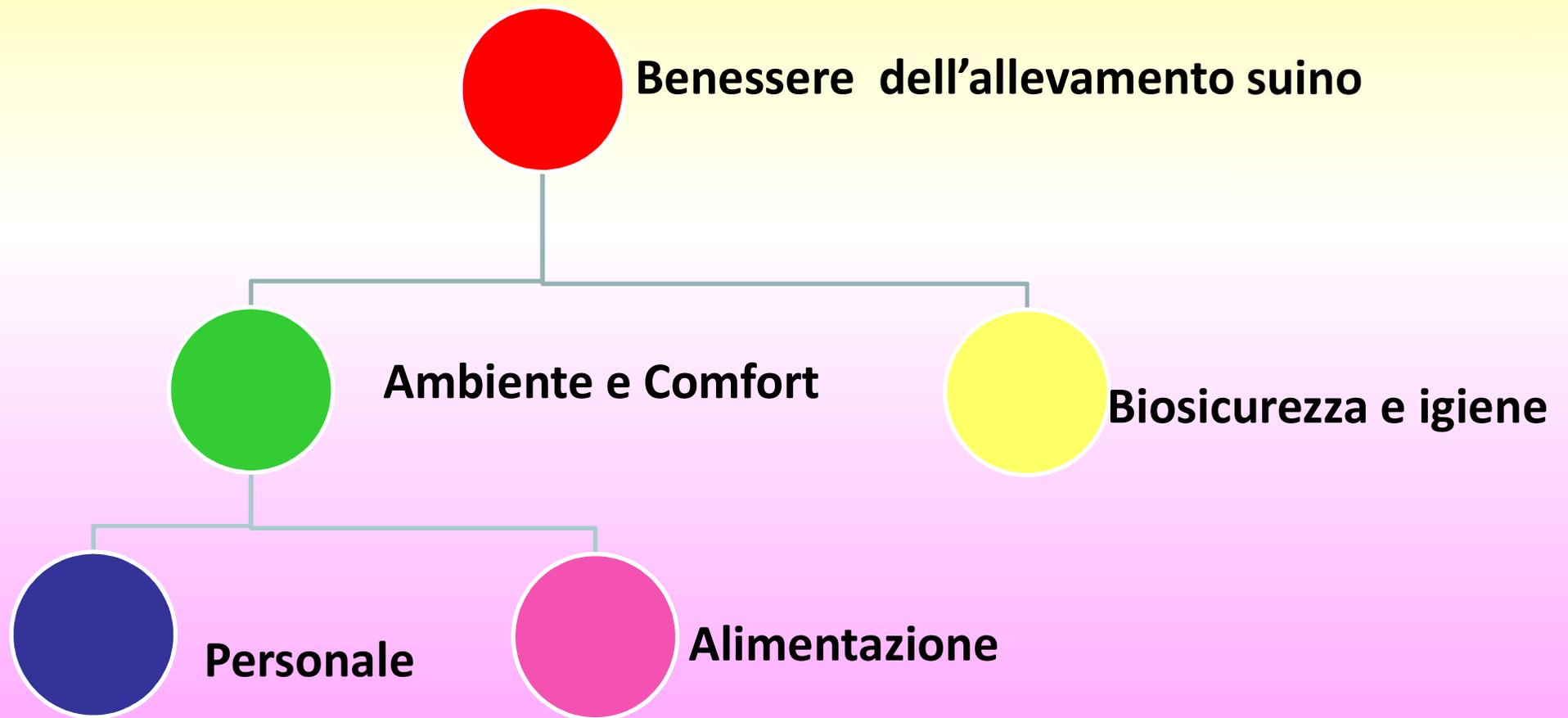
Se manca questo adattamento vi sarà sofferenza.....!!!

Lo stato di sofferenza, inciderà in modo negativo sull'equilibrio dell'animale **portando a riduzioni delle prestazioni sia produttive che riproduttive.**



Direttiva 2008/120/Ce

D. Lgs 7 luglio 2011 N°122 (recepimento Italia)





Ambiente e Comfort

❖ Box di allevamento :

- Singolo
- Superficie libera al suolo di almeno 6 mq
- Pavimento non sdruciolevole
- Temperatura controllata 14-18°C
- Ben illuminato e ventilato
- Arricchimenti ambientali (materiale manipolabile come paglia tronco di legno e palle da gioco)
- Sistemati e costruiti in modo da permettere all'animale di girarsi e di avere il contatto uditivo, olfattivo e visivo con gli altri suini.



Alimentazione

- Favorire un buon accrescimento scheletrico e muscolare per evitare difetti agli arti (compromissione capacità di monta e debolezza delle ossa)
- Razione di mantenimento a copertura dei fabbisogni
- Evitare l'ingrassamento (ripercussioni negative sulla libido e produzione spermatica diminuzione della fertilità)



Biosicurezza e igiene

- Corretta gestione della movimentazione degli animali in entrata e uscita dall'allevamento
- Corretta gestione del periodo di quarantena
- Adeguate misure per la gestione degli accessi in allevamento (mezzi, indumenti, calzari)
- Adeguata pulizia e disinfezione dei locali e delle attrezzature (abbattimento della carica batterica con conseguente riduzione dell'uso degli antibiotici)
- Adeguate misure per la gestione delle malattie in allevamento



Personale

Dovrà:

- Essere in numero adeguato
- Avere conoscenze e competenze professionali specifiche acquisite anche tramite la formazione continua
- Trattare il verro con calma e tranquillità per evitare:
 - ✓ stati di irritazione e di panico nell'animale che potrebbero determinare una riduzione dell'efficienza riproduttiva
 - ✓ le sessioni di allenamento al salto non devono mai essere associate a eventi spiacevoli (percosse, situazioni di stress)
 - ✓ comportamenti ostili dell'operatore durante il salto con conseguente rifiuto alla monta e maggiore aggressività



Scelta del verro

- Figlio di riproduttori iscritti al libro genealogico (linee pure) o iscritti all'albo nazionale (ibridi)
- Soddisfare le esigenze morfo-funzionali in funzione della tipologia di allevamento
- Tipo genetico scelto in funzione della produzione che si vuole ottenere
- Correttezza delle linee mammarie e il numero di capezzoli (per produrre scrofe da rimonta)
- Robustezza degli arti e correttezza degli appiombi
- Apparato riproduttivo privo di anomalie



Addestramento al salto

- **Maturità sessuale raggiunta al 5°-6° mese**
- **Inizio addestramento 7°-8° mese**
- **Frequenza di salto:**
 - ✓ **N. 1 prelievi/settimana fino 12-15 mesi**
 - ✓ **N. 2-3 prelievi/settimana dopo i 12-15 mesi**
- **Riposo tra i salti:**
 - ✓ **circa 36 ore o più in funzione dell'età**
 - ✓ **non superiore ai 15 giorni**



Seme refrigerato e congelato vantaggi e svantaggi



Seme Refrigerato

Vantaggi

- ✓ maggiore fertilità
- ✓ utilizzo di verri aziendali
- ✓ facile utilizzo

Svantaggi

- ✓ periodo di conservazione limitato
- ✓ minore disponibilità di verri selezionati

Seme Congelato

Vantaggi

- ✓ programmi di accoppiamento ottimizzati fra verri e scrofe di alto interesse genetico
- ✓ permette ai selezionatori disponibilità di seme di soggetti non più in vita.
- ✓ rende disponibile il miglioramento genetico anche agli allevatori che non riescono ad approvvigionarsi di seme refrigerato
- ✓ conservazione in azoto liquido per un tempo illimitato

Svantaggi

- ✓ minore fertilità
- ✓ minore numero di suinetti per parto
- ✓ protocollo di scongelamento delicato
- ✓ gestione dell'azoto liquido (sicurezza)



Come produrre e conservare dosi di seme refrigerato e congelato



Centro verri

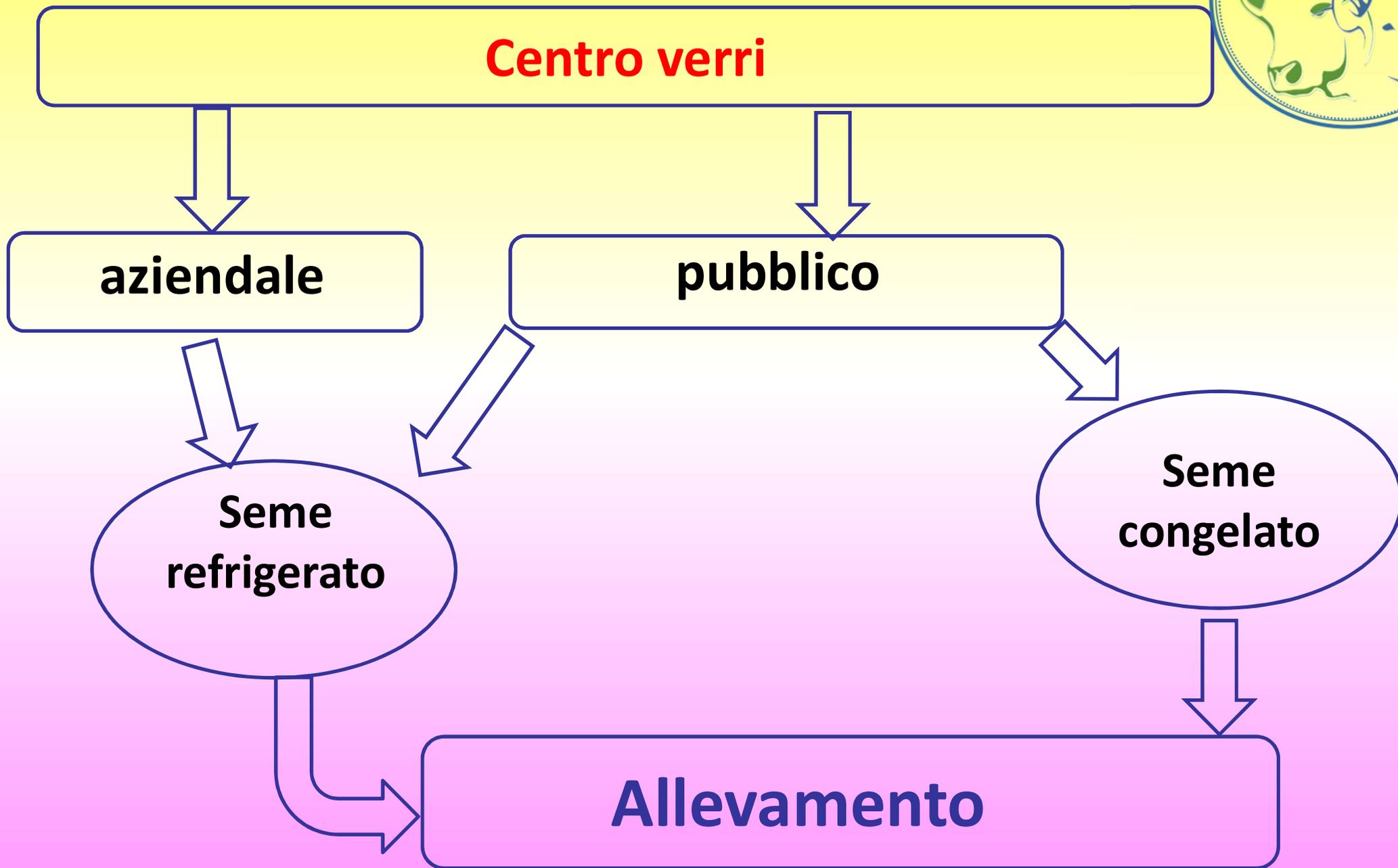
aziendale

pubblico

**Seme
refrigerato**

**Seme
congelato**

Allevamento





❖ Il Laboratorio

Il locale da adibire al laboratorio deve essere ubicato vicino alla zona di prelievo, ma raggiungibile solo attraverso un disimpegno dove verrà posto il frigo-termostato contenente le dosi al fine di limitare al massimo l'inquinamento provocato dall'ingresso del personale

laboratorio

Mantenere pulito e disinfettato al fine di prevenire contaminazioni batteriche

**Dotato di tutti gli strumenti necessari
Calibrati , tarati e ben mantenuti
Corretta definizione dei parametri seminali**

**Preparare tutto il necessario prima di effettuare il prelievo
Il seme va subito lavorato !**

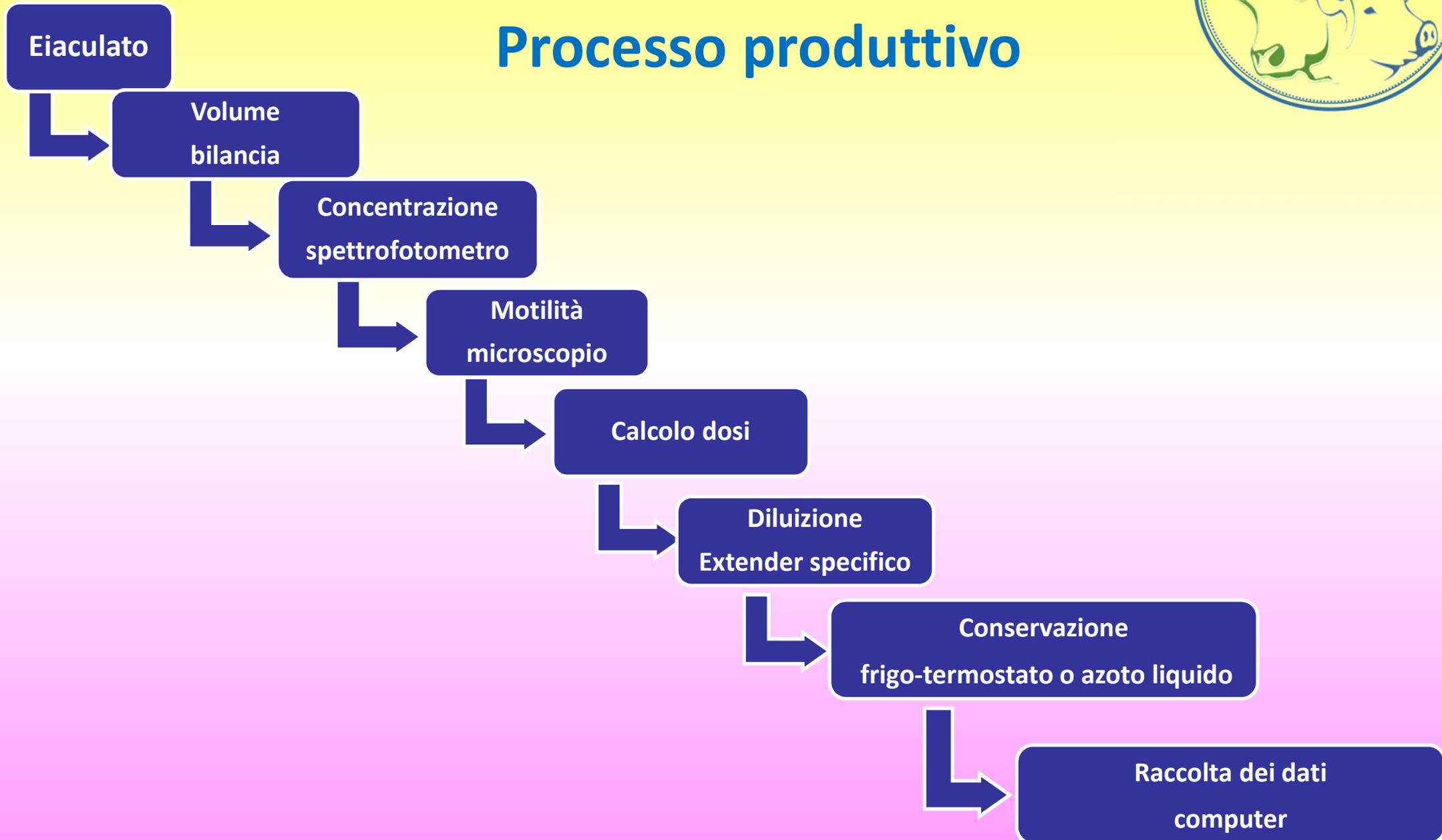


**Attrezzatura da
Laboratorio**





Processo produttivo





Eiaculato

Volume

Concentrazione

1° diluizione

**Eliminazione
eiaculato**

NO

**Motilità > 70 %
e
Anomalie < 20%**

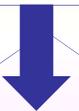
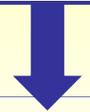
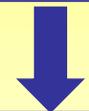
SI

**Calcolo del
numero di dosi**

Stoccaggio

Confezionamento

Diluizione finale





❖ Eiaculato

Non è omogeneo ma si presenta con aspetti e contenuti diversi:

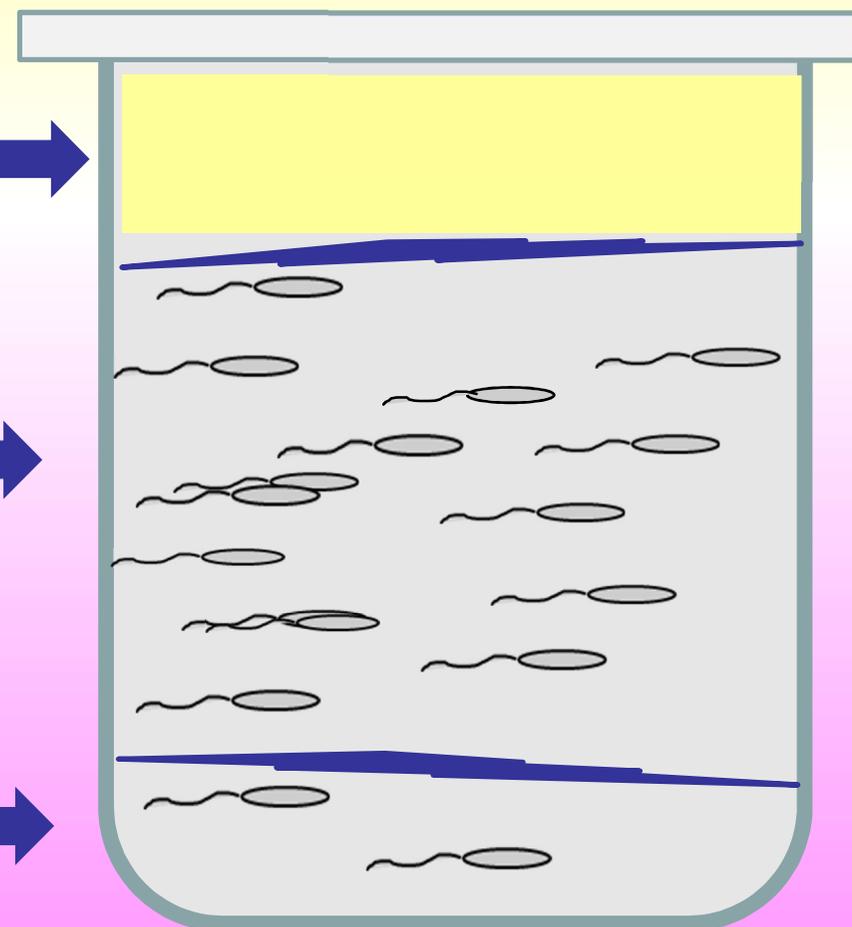
Fase Post-spermatICA contiene «tapioca»



Fase SpermatICA densa di spermatozoi

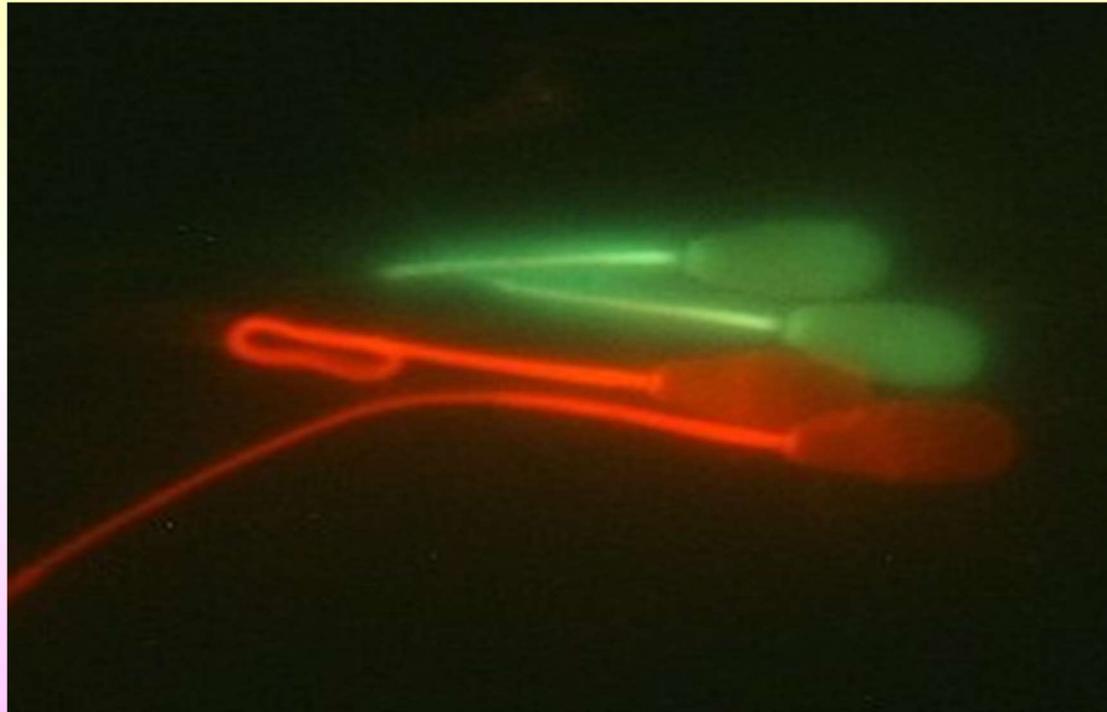


Fase Pre-spermatICA con pochi spermatozoi





Analisi dell'eiaculato..... Cosa analizziamo ?



- **Lo spermatozoo cellula “atipica” in quanto esprime il meglio di sé in un organismo diverso da quello che lo ha prodotto !!!**



❖ Colore

- ✓ **valutazione visiva per verificare l'eventuale presenza di elementi estranei: tracce di sangue, urina, detriti ecc...**
- ✓ **escludere la presenza di "tapioca", disturba la produzione di dosi!**

❖ Volume

- ✓ **la massa totale dell'eiaculato raccolto**
- ✓ **la valutazione viene determinata tramite pesata con l'utilizzo di una bilancia (1 g = 1 mL) previa determinazione della tara del recipiente per il prelievo.**



❖ Concentrazione

per concentrazione si intende il numero di spermatozoi per unità di volume

- ✓ la determinazione della concentrazione, **permette la standardizzazione del numero di spermatozoi contenuti in una dose** in funzione dell'ottimizzazione del processo produttivo.
- ✓ la valutazione viene eseguita tramite: **spettrofotometro calibrato**

Spettrofotometro

Determina la concentrazione di un campione tramite la lettura dell'assorbanza. ***L'assorbimento risulta direttamente proporzionale alla concentrazione.***

Per valori di concentrazione alti i valori di assorbanza saranno elevati.





❖ Extender

- **Supporto energetico**
- **Protegge le membrane**
- **Conserva il pH**
- **Mantiene la corretta osmolarità**



- **Essere Isotonico rispetto allo sperma (300 mosm)**
- **Avere un pH ottimale (7.0-7.5)**
- **Avere un potere tampone a protezione delle strutture di superficie degli spermatozoi**
- **Contenere sostanze favorevoli al metabolismo anaerobico delle cellule**
- **Svolgere un'azione inibente (batteriostatica)**



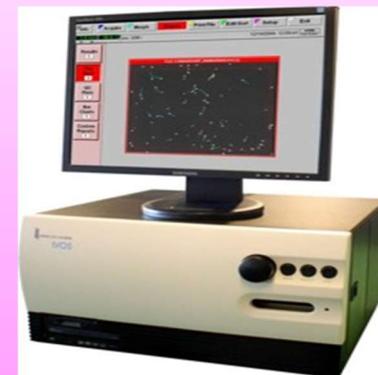
❖ Motilità

Per motilità si intende la percentuale di spermatozoi vivi nell'eiaculato

- ✓ la motilità è importante per il passaggio delle barriere uterine e per la penetrazione nel cumolo ooforo attorno l'oocita
- ✓ a tutt'oggi rimane il parametro qualitativo che più comunemente viene valutato associandolo alla fertilità
- ✓ il calo della motilità risulta essere un indicatore di compromissione dell'attività metabolica

Microscopio o sistema CASA

- ✓ aliquota di seme pre-riscaldato in bagnomaria a 37°C
- ✓ la valutazione viene espressa in percentuale utilizzando una soglia discriminante del 10%



In presenza di un eiaculato con una motilità inferiore al 70 % il processo produttivo viene interrotto e l'eiaculato eliminato.



❖ Valutazione morfologica

per anomalie degli spermatozoi si intendono tutte le deviazioni della forma dello spermatozoo rispetto al modello di “normalità”.

- valutare la presenza di anomalie degli spermatozoi nel campione in esame (teste staccate, gocce, code anomale) rappresenta un metodo per valutare lo sviluppo e la maturazione delle cellule
- quando in un eiaculato un gran numero di spermatozoi si presenta morfologicamente anormale è probabile che si sia verificata un'alterazione della spermatogenesi o della maturazione degli spermatozoi

Microscopio

- ✓ aliquota di seme fissata con glutaraldeide
- ✓ la valutazione viene espressa in percentuale utilizzando una soglia discriminante del 10%

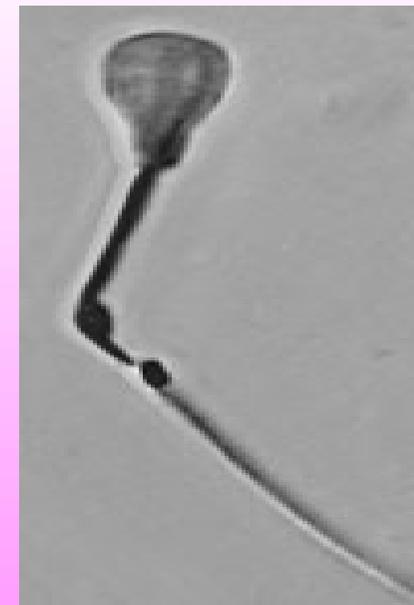
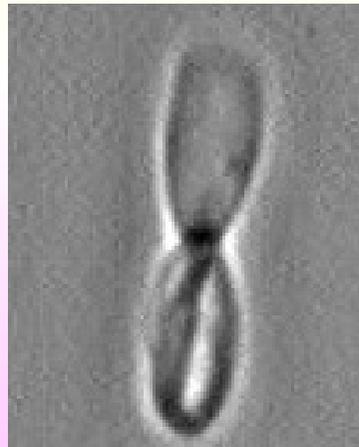
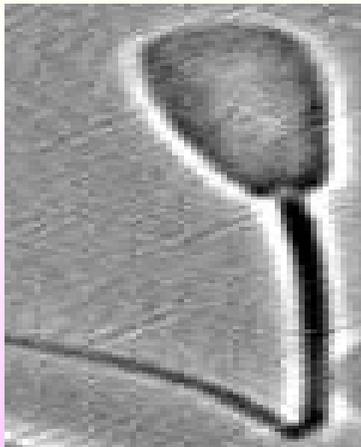
Per anomalie morfologiche o gocce citoplasmatiche prossimali superiori al 20% eliminare l'eiaculato





✓ **valutare la presenza di code anormali concorrere alla definizione di:**

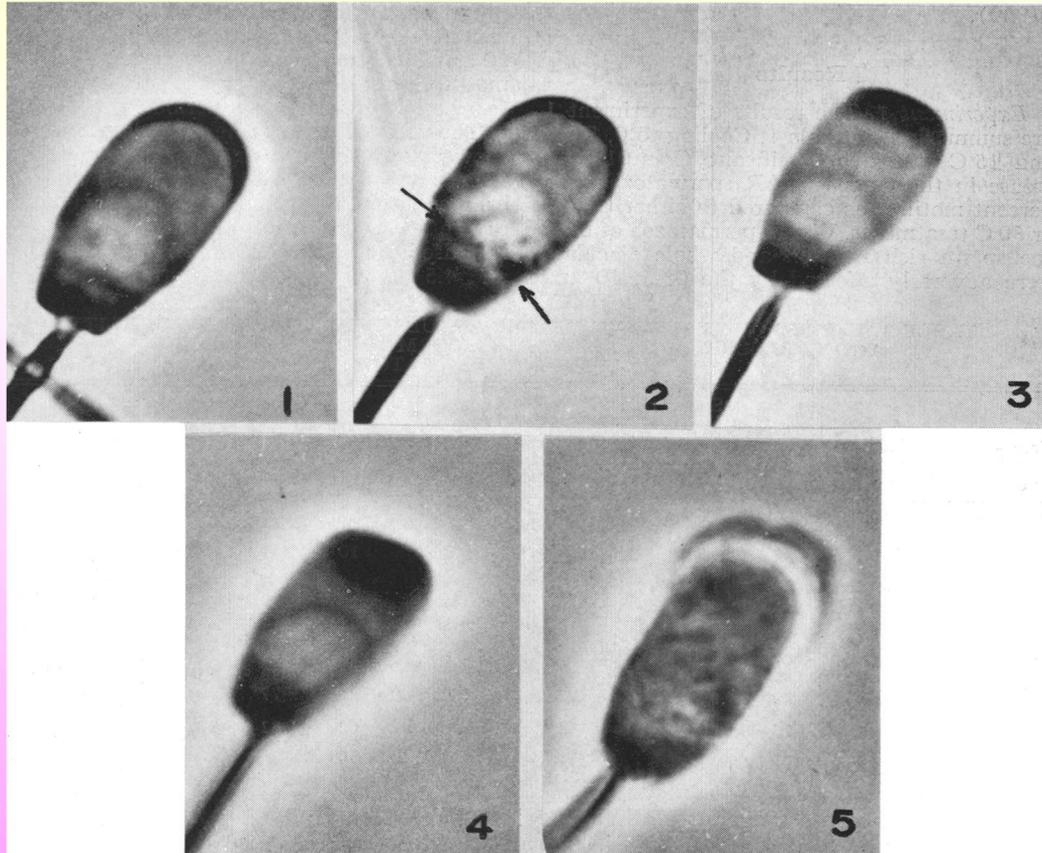
- **alterazione del processo maturativo degli spermatozoi**
- **invecchiamento cellulare da conservazione**
- **osmolarità dell'extender non corretta**



✓ **valutare la presenza di gocce citoplasmatiche prossimali sulla coda dello spermatozoo concorre alla definizione di spermatozoi immaturi (verri troppo giovani o eccessivamente sfruttati)**



✓ valutare la presenza di anomalie dell'acrosoma sul seme lavorato
concorre alla definizione di:



- possibili shock termici
- osmolarità dell'extender non corretta
- presenza accidentale di acqua o urine
- invecchiamento cellulare da conservazione



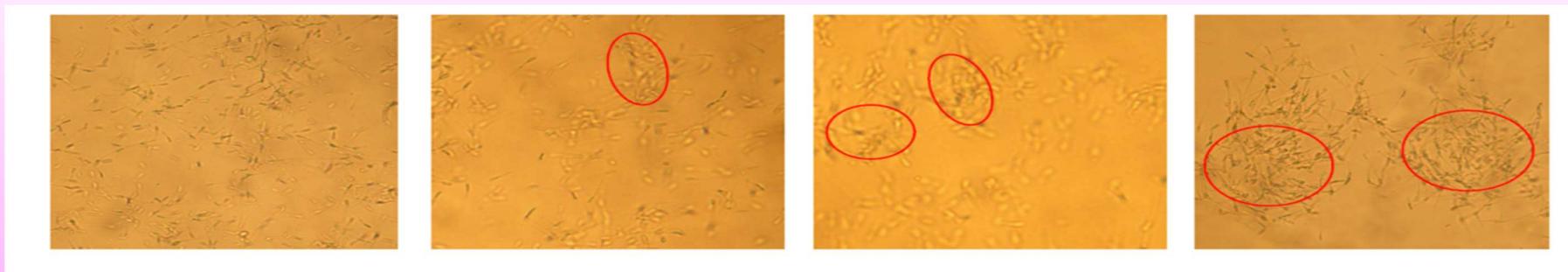
❖ Centri di agglutinazione

per centri di agglutinazione si intende l'aggregazione di più spermatozoi tra loro attaccati per la coda o per la testa

valutare l'eventuale presenza di centri di agglutinazione per frequenza e dimensione concorre alla definizione di:

➤ «*eiaculato*» troppo maturo (verri a fine carriera o poco sfruttati)

Valutati tramite **microscopio** e classificati sia per **dimensioni** (piccoli, medi, grandi) che per **frequenza** (bassa, media, alta).



- Una presenza media e/o frequente dei centri di agglutinazione porta all'eliminazione dell'eiaculato



❖ Modalità di calcolo delle dosi

Dose Obiettivo

Numero Spermatozoi Dose (**NSD**) = XXX (10^6)

Volume Dose (**VD**) = XX mL

} In funzione del tipo di inseminazione

Calcolo numero di dosi:

Volume Eiaculato → **VOL** (mL)

Concentrazione Eiaculato → **CONC** (10^6 /mL)

Numero Spermatozoi Eiaculato (**NSE**) (10^6) = VOL x CONC

Numero di Dosi (**ND**) = **NSE / NSD**

Volume Finale (Eiaculato + Extender) (**VF**) = ND x VD



Seme Refrigerato

❖ Confezionamento e raffreddamento

- preparare le *'buste'* pre-marcate prima dell'inizio del confezionamento
- confezionare il seme diluito avendo cura di miscelare e tenere in sospensione il preparato (operazione necessaria affinché le dosi risultino omogenee)
- garantire lo stesso peso per tutte le dosi
- raffreddare a temperatura ambiente (20-22°C) le dosi per almeno un'ora al riparo dalla luce e da fonti di calore prima di riporle in frigo-termostato a 15°-16 C.



❖ Conservazione delle dosi

- **porre le dosi in frigo-termostato dopo aver raggiunto il raffreddamento**
- **evitare di riporre a 15-16°C dosi ancora calde.**
- **i ripiani del frigo-termostato non devono mai essere riempiti completamente al fine di consentire un'uniforme circolazione dell'aria tra gli oggetti**



❖ Monitoraggio qualitativo dosi

durante la conservazione delle dosi nella fase di stoccaggio, e comunque prima del loro utilizzo, eseguire un'analisi qualitativa, tramite la determinazione della motilità, al fine di valutarne l'utilizzo per la successiva inseminazione



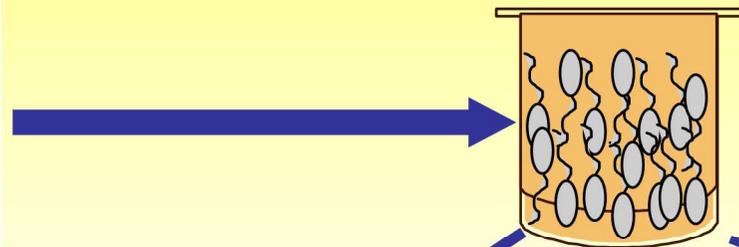
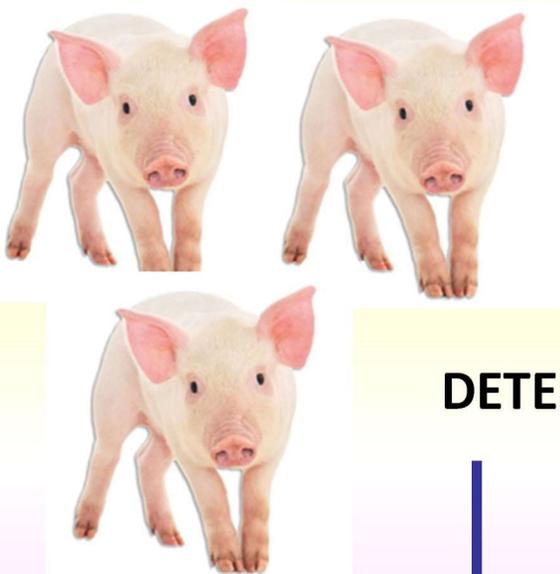
Seme Congelato

La Criobiologia

- La criobiologia è la branca della biologia che analizza il funzionamento degli organismi viventi, degli organi, dei tessuti e delle cellule a basse temperature.
- Alla base della crioconservazione vi è lo sfruttamento dell'azione del freddo che determina il rallentamento o l'arresto metabolico della cellula.

La sfida.....

Conservare le cellule in uno stato di animazione sospesa per lunghi periodi di tempo, preservando al contempo la loro capacità di riprendere vita al momento del ripristino della temperatura e di svolgere tutte le normali funzioni biologiche.



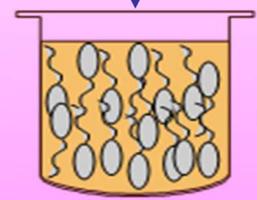
**EIACULATO
PREDILUITO**

MANTENERE A Temp = 15-16°C

**DETERMINAZIONE
PESO**

**DETERMINAZIONE
CONCENTRAZIONE**

**DETERMINAZIONE DELLA
MOTILITA'**



CENTRIFUGA.....





T = 15-16°C

CENTRIFUGAZIONE 800 g 25 MINUTI

OBIETTIVO DOSE : indicazioni aziendali

CALCOLO DILUIZIONE:

Esempio di calcolo concentrazione dose (10 paillettes) 5000 x 10⁶ :

NSD (Numero Spermii paillettes) = 500 (10⁶)

VD (Volume paillettes) = 0,5 mL

VOL (volume eiaculato) = 200 (mL)

CONC (Concentrazione Eiaculato) = 200 (10⁶/mL)

NSE (Num Spermii Eiaculato) (VOL x CONC) = 200 X 200 = 40.000 (x 10⁶)

ND (Numero di paillettes) = NSE / NSD = 40.000 / 500 = 80

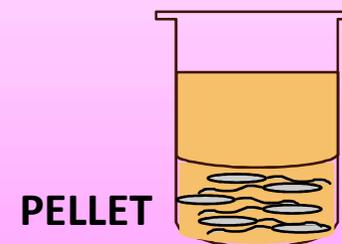
VF (Volume Finale pellet + Extender) = VD x ND = 0,5 x 80 = 40 (mL)

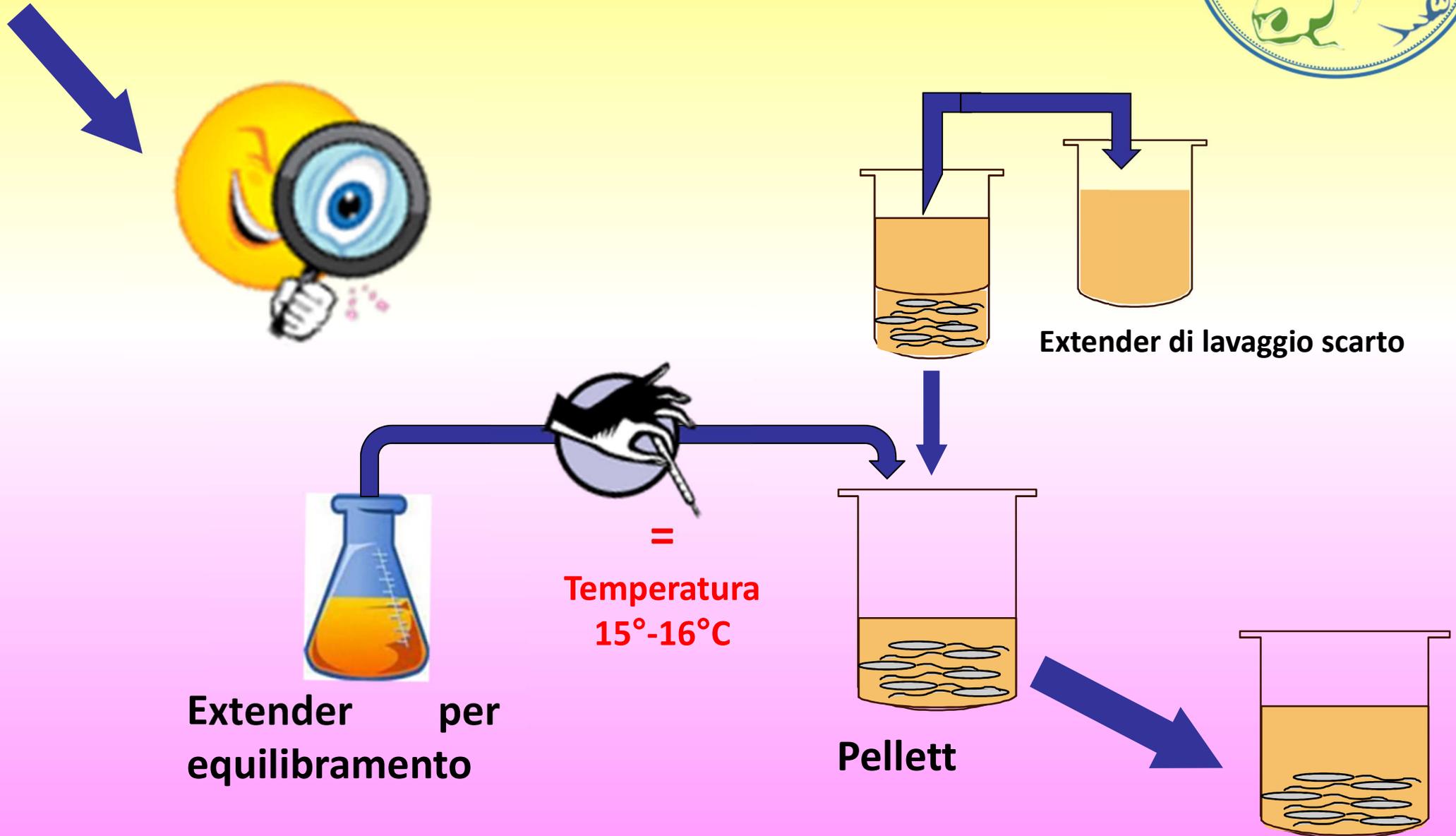
VP (Volume pellet) = 5 (mL)

VOLUME EXTENDER A+B = VF-VP = 40 - 5 = 35 (mL)

- **aggiunta EXTENDER A= 17,5 (mL)**
- **aggiunta EXTENDER B =17,5 (mL)**

centrifugato T=15-16°C







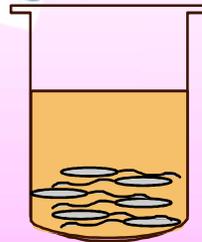
**EQUILIBRAMENTO T= 4°C per 75
MINUTI**



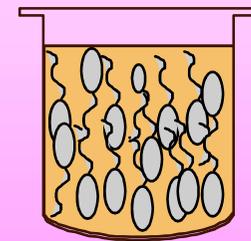
**Extender da
congelamento
a 4°C**

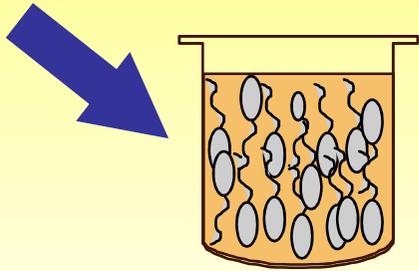
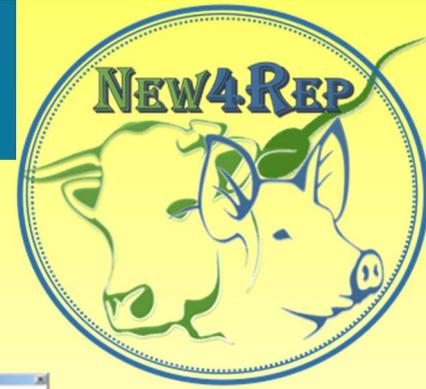


DILUIZIONE FINALE

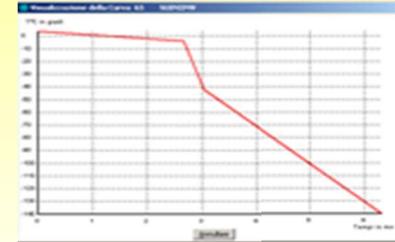


Mantenere a 4°C





CONFEZIONAMENTO A $T=4^{\circ}\text{C}$

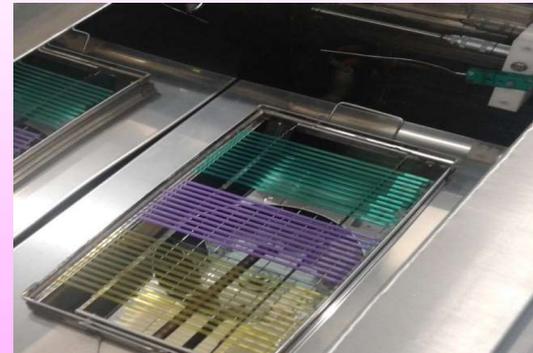


SCelta CURVA DI CONGELAMENTO



STOCCAGGIO

CAMERA $T 4^{\circ}\text{C}$



CONGELAMENTO



❖ Scongelamento

➤ Prestare molta attenzione alla movimentazione delle paillettes di seme congelato: se subiscono sbalzi di temperatura possono formarsi cristalli di ghiaccio intracellulari con conseguente danno cellulare!!!!!!!!!!!!



- ✓ prima di scongelare preparare tutto il materiale necessario per le successive fasi
- ✓ seguire il protocollo di scongelamento fornito dal produttore
- ✓ estrarre rapidamente dal bicchiere solo le paillettes necessarie
- ✓ non scongelare e ricongelare le paillettes (le paillettes poste fuori dall'azoto liquido anche per pochi istanti si scongelano)

❖ Stoccaggio



- ✓ dotare il contenitore di mappa per poter individuare in modo facile la posizione del campione da utilizzare
- ✓ richiudere il contenitore il prima possibile per evitare inutile dispersione di azoto;
- ✓ monitorare periodicamente il livello di azoto presente nel contenitore



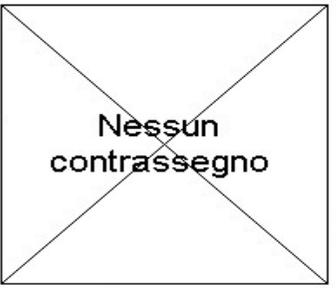
❖ Gestione dei dati

La registrazione dei dati computerizzata permette di:

- **monitorare in modo dettagliato e preciso l'andamento aziendale**
- **ottenere informazioni in tempi brevi**
- **confrontare più variabili contemporaneamente**
- **garantire una moderna e competitiva gestione aziendale**
- **scegliere i riproduttori**
- **garantire una corretta rimonta a favore di un costante progresso genetico**
- **costituire un archivio storico utile nei programmi di gestione aziendale (sanitaria, riproduttiva ecc...)**



❖ Utilizzo azoto liquido e sicurezza

 <p>Nessun contrassegno</p>	<p><i>Contrassegno di pericolo dell'azoto</i> <i>Non presente in quanto sostanza non classificata pericolosa</i> <i>E' comunque un ASFISSIANTE SEMPLICE E UN LIQUIDO USTIONANTE</i></p>
	<p><i>Pericolo per la presenza di basse temperature</i></p>
	<p><i>Pericolo di asfissia per possibile residuo di ossigeno insufficiente per la normale respirazione del lavoratore</i></p>



❖ Dispositivi di protezione individuale



Nel caso di manipolazione di azoto liquido è obbligatorio l'uso della pettorina in quanto un movimento o una operazione errata può comportare la fuoriuscita di azoto liquido dal contenitore criobiologico



Obbligo di uso di guanti di protezione
Nel caso di manipolazione di azoto liquido è obbligatorio l'uso dei guanti in quanto un movimento o una operazione errata può comportare la fuoriuscita di azoto liquido dal contenitore criobiologico



Cartello di obbligo di uso di visiera di protezione
Nel caso di manipolazione di azoto liquido è obbligatorio in quanto un movimento o una operazione errata può comportare lo schizzo di azoto liquido con possibili ustioni dell'operatore nonché proteggere gli occhi da eventuali scoppi delle paillettes



**Grazie per
l'attenzione....!**

