

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO
Facoltà di Medicina Veterinaria
Corso di Laurea Triennale in Allevamento e Benessere
Animale indirizzo Territorio



PERFORMANCE-TEST NELLA RAZZA BRUNA:
ASPETTI RIPRODUTTIVI

Relatore: Prof. Alessandro BAGNATO

Tesi di laurea di:
Lino TESTA
Matr. n. 618925

Anno Accademico 2002/2003

INDICE

INTRODUZIONE

PREMESSA	pag. 5
1) BRUNA ITALIANA	
1.1) Descrizione della razza	pag. 6
1.2) ANARB	pag. 8
2) ATTIVITA' DEL CENTRO GENETICO	
2.1) Obbiettivi del centro	pag. 9
2.2) Descrizione ambiente e strutture	pag. 9
Stalla di quarantena	pag. 10
Stalla di Performance test	pag. 10
Stalla di sosta	pag. 11
2.3) Gestione stalle	pag. 11
Gestione stalla quarantena	pag. 11
Gestione stalla di Performance test e di sosta	pag. 12
Alimentazione	pag. 12
Altre operazioni	pag. 14

3) PROVE DI PROGENIE

3.1) Fasi delle Prove di Progenie	pag. 15
-----------------------------------	---------

4) PERFORMANCE TEST

4.1) Indicazioni utili per l'allevamento di riproduttori destinati al C.G.	pag. 17
4.2) Ammissione al performance test	pag. 18
Requisiti genealogici	pag. 19
Requisiti sanitari	pag. 21
Documenti di ammissione	pag. 22
4.3) Percorso dei torelli	pag. 23
Stalla di quarantena	pag. 23
Stalla di Performance test	pag. 24
Stalla di sosta	pag. 25
4.4) Prove al Centro	pag. 25
Test al Centro	pag. 25
Valutazioni morfologiche	pag. 26
Rilevazioni biometriche	pag. 26
Incrementi ponderali	pag. 26
Prelievo seme e attività di salto	pag. 27
Analisi del seme	pag. 28

5) ANATOMIA E FISIOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE MASCHILE

5.1) Apparato genitale maschile	pag. 30
Scroto ed invogli testicolari	pag. 30
Testicoli	pag. 31
Epididimo	pag. 32
Maturazione epididimale	pag. 32
5.2) Termoregolazione del testicolo	pag. 33
5.3) Spermatozoo	pag. 34
5.4) Anomalie degli spermatozoi	pag. 35
Anomalie acquisite	pag. 35
Anomalie ereditarie	pag. 35

ANALISI SVILUPPATA

6) PRESENTAZIONE	pag. 37
------------------	---------

7) OBIETTIVO	PAG. 38
--------------	---------

8) MATERIALI E METODI	pag. 39
-----------------------	---------

8.1) Dati ambientali	pag. 39
8.2) Dati del soggetto e del prelievo	pag. 39

8.3) Analisi del seme	pag. 39
8.4) Creazione dei data set dei dati	pag. 41
8.5) Analisi statistiche	pag. 42
9) RISULTATI	pag. 43
10) CONCLUSIONI	pag. 50
BIBLIOGRAFIA	pag. 51
RINGRAZIAMENTI	pag. 53

INTRODUZIONE

PREMESSA

L'elaborato qui presentato nasce dalla mia esperienza personale acquisita durante il periodo di tirocinio svolto presso la sede dell'Associazione Nazionale Allevatori Bovini della Razza Bruna. In particolare ho potuto lavorare nell'ambito dell'allevamento degli animali da riproduzione della razza Bruna e della gestione organizzazione e controllo del Centro Genetico. Ho partecipato alle diverse attività del Centro Genetico affiancando gli operatori nelle loro mansioni sia manuali che concettuali. La mia attività di stage tuttavia si è incentrata prevalentemente sulle fasi del Performance test ed in particolare su quelle più pratiche e dirette agli animali. Ho avuto quindi modo di partecipare in prima persona, alla gestione quotidiana delle stalle, affiancando gli operatori addetti durante le loro mansioni. Ho svolto le mansioni di: foraggiamento, rifacimento delle lettiere, pulizia generale della struttura e il controllo della funzionalità delle apparecchiature. Ho eseguito, affiancato dall'esperto di razza, le valutazioni morfologiche e le rilevazioni biometriche; ho partecipato alle fasi delle registrazioni degli incrementi ponderali, effettuando la movimentazione fino alla pesa, e la pesata stessa. Ho poi avuto l'occasione di seguire le operazioni di prelievo di materiale seminale degli animali e quindi le varie attività della zona salto e successivamente ho avuto anche modo di partecipare ed effettuare le attività di analisi del seme. Ho assistito all'arrivo dei nuovi soggetti e alle operazioni che comporta questa fase, partecipando al loro scarico, gestione del registro carico/scarico, alla loro movimentazione nei box e alle operazioni di controllo dei documenti che devono accompagnare i tori in questa fase. Ho avuto inoltre la possibilità di seguire il lavoro del veterinario del Centro in occasione delle varie attività quali: cure podali, cutanee, prelievi, controllo routinario dello stato di salute degli animali. Durante il mio periodo di stage ho avuto inoltre dei momenti di formazione in cui mi è stato spiegato in modo molto generale quali sono le varie attività dell'ANARB, gli scopi e gli obiettivi. Ho partecipato ad alcune attività d'ufficio, assistendo alle fasi di preparazione delle documentazioni necessarie per l'entrata al Centro dei soggetti quali: domanda d'ammissione, risposta alla domanda

d'ammissione, invio del Mod. A, scheda visita preentrata, modulo con modalità di prelievo IBR entro il 90° giorno di età e il certificato sanitario.

Lungo la mia permanenza all'Associazione sono stato colpito in modo particolare dalle analisi del seme le quali mi hanno suscitato grande interesse. Molte sono state le curiosità che mi hanno suggerito, ma in particolare mi sono sempre posto il dubbio se gli effetti ambientali e di età potessero avere in qualche modo delle influenze sulla produzione di seme degli animali. Grazie alla grande disponibilità di dati in possesso del Centro ho dunque preso spunto da questo mio interesse per effettuare un'analisi e poter verificare se temperatura massima e minima, umidità, età e numero di prelievo avessero delle influenze sulla quantità e qualità seminale.

1) BRUNA ITALIANA

1.1) DESCRIZIONE DELLA RAZZA

Con un patrimonio di circa 750.000 capi, le vacche di razza Bruna allevate in Italia sono oltre 400.000, 220.000 i capi iscritti al Libro genealogico, 140.429 le vacche sottoposte ai controlli funzionali e di queste oltre il 90% è inseminato artificialmente. 11.500 gli allevatori - che attraverso gli 89 Uffici provinciali del Libro genealogico aderiscono ai programmi di selezione - con una media di 20 capi per allevamento (di cui 11 vacche).

La Bruna italiana è una razza capace di dare buone produzioni di latte di notevole qualità con rese alla caseificazione nettamente superiori alla media, particolarmente adatto alla produzione di formaggi tipici con grande capacità di adattamento ai più svariati ambienti agricoli.

La produzione media italiana per lattazione è di kg 5824 con il 3,41% di proteina e il 3,99% di grasso. (i 20 migliori allevatori della Bruna non solo hanno produzioni medie di 9455 kg, ma la % media di proteina si eleva a quota 3,58%.)

I programmi e gli obiettivi riguardanti la razza Bruna attuati dall'Anarb, hanno lo scopo di ottenere una selezione sempre più accurata attraverso:

- il performance test - Il Centro genetico della razza Bruna costituisce la struttura concreta della selezione genetica della razza Bruna in Italia. Qui si trovano i soggetti

nati dai migliori riproduttori, maschi e femmine, ottenuti spesso a partire da programmi di accoppiamento. I giovani tori presenti al Centro genetico possiedono un elevato valore genetico, che si esprimerà durante l'attuazione dei programmi selettivi.

- gli indici genetici - Essi sono lo strumento di selezione che permette agli allevatori di scegliere accuratamente la rimonta della stalla (femmine giovani da allevare) e i tori da utilizzare per le inseminazioni. Per ogni soggetto, sia maschio che femmina, iscritto al Libro genealogico, viene formulato ogni 3 mesi da un rapporto il quale comprende anche le stime del valore riproduttivo (per oltre 20 caratteristiche produttive e morfologiche);
- valutazione morfo-funzionale - Dal punto di vista morfo-funzionale la razza Bruna ha avuto un'importante evoluzione. I miglioramenti hanno riguardato molti aspetti; in particolare quelli riguardanti la forza e l'adattabilità tipiche della razza, le quali, assieme alla validità della mammella ed al netto miglioramento dei caratteri lattiferi, hanno consentito negli ultimi anni sensibili incrementi produttivi. E' da sottolineare la longevità della razza (in media 3,39 lattazione a capo).

Il programma di miglioramento della razza si avvale di vari strumenti. Tra questi oltre a quelli tradizionalmente impiegati per il miglioramento dei bovini da latte, ricordiamo:

- gli accoppiamenti programmati – Per facilitare la scelta dei tori migliori da utilizzare per la fecondazione, vi è la possibilità di poter eseguire degli accoppiamenti programmati. Per ogni singola vacca, si può individuare il riproduttore più adatto, sia dal punto di vista morfologico, sia che da quello riproduttivo;
- la qualità del latte – Caratteristica della razza Bruna è l'elevata qualità del latte alla quale si è sempre dato una notevole importanza nella selezione. Infatti sia i tori che le vacche vengono testati per quanto riguarda le caseine e le altre proteine di maggior interesse (es. beta-lattoglobuline); Questo ha permesso di raggiungere buoni risultati sulla incidenza della variante genotipica della k caseina B, (la più favorevole alla caseificazione).

ANARB (Associazione Nazionale Allevatori Bovini Razza Bruna)

L'associazione viene fondata nel 1957 ed ha i seguenti scopi:

- miglioramento della razza Bruna in funzione di una maggiore valorizzazione economica;
- gestione del Libro genealogico secondo le direttive della Commissione tecnica centrale mediante l'Ufficio centrale e gli Uffici provinciali;
- promozione di studi e ricerche finalizzati alla risoluzione di specifici problemi tecnico economici, in collaborazione con gli Organi statali competenti e gli Istituti di ricerca e sperimentazione;
- gestione del centro genetico: performance-test su tutti i vitelli destinati alla prova di progenie; tori di particolare interesse genetico e nuove linee di sangue in attesa dei risultati delle valutazioni genetiche
- promozione, anche con la collaborazione di altri organismi di manifestazioni zootecniche intese ad evidenziare i progressi realizzati dalla razza attraverso la selezione;
- redazione e diffusione di pubblicazioni tecniche. (sito ANARB 2003)

2) ATTIVITA DEL CENTRO GENETICO

2.1) OBIETTIVI DEL CENTRO

Il Centro Genetico dell'Associazione Nazionale è l'elemento fondamentale dello schema selettivo della razza in quanto il disciplinare del Libro genealogico prevede che tutti i tori da inserire nelle prove di progenie della Razza Bruna debbano essere sottoposti alle prove del Performance-test da eseguire appunto, presso il centro sopra citato.

Il Centro genetico ha il compito di garantire agli allevatori e ai Centri di FA, riproduttori maschi dotati di caratteristiche genetiche migliorative, tutelandone nel frattempo lo stato sanitario onde evitare rischi per un patrimonio genetico di altissimo valore. Per questo motivo, il Centro genetico da delle disposizioni su particolari requisiti tecnici e sanitari ai quali gli animali futuri ospiti devono rispondere per poter essere ammessi. Inoltre il Centro fornisce tutta una serie di indicazioni utili per gli allevatori, sul procedimento da seguire per produrre animali che rispondano al meglio a questi requisiti.

2.2) DESCRIZIONI AMBIENTI E STRUTTURE

La struttura del Centro Genetico ANARB è costituita da:

- "A" Stalla di accettazione e quarantena. Tutti i tori che entrano al Centro genetico vengono accolti in questa struttura alla quale vi è annessa la stalla di isolamento.
- "B" Stalla del Performance-test Dove vengono fatti i controlli alimentari, ponderali, morfologici, sulla capacità riproduttiva, ecc., previsti dal regolamento.
- "C" Stalla tori di particolare interesse (in attesa di valutazione). Dove vengono ricoverati alcuni tori in attesa dei risultati delle valutazioni genetiche.

Differentemente dalle convenzionali stalle di allevamento di bovini, quella del performance test, è dotata di una serie di corridoi esterni. Queste strutture permettono la movimentazione in piena sicurezza e tranquillità, sia per gli animali

che per gli operatori. Questi corridoi sono delimitati ai lati da strutture tubolari in ferro zincato che formano dei percorsi prestabiliti entro i quali i torelli vengono movimentati verso le zone interessate (box, zona salti, pesa, ecc..), con dimensioni tali da non permettere ai tori di cambiare il senso di marcia.

Lungo questi percorsi sono presenti inoltre delle vie di fuga, dalle quali gli operatori possono uscire in caso di pericolo.

Questo tipo di soluzione, permette di lavorare in modo sicuro e tranquillo evitando di rischiare l'indennità degli operatori e degli animali stessi, facilitando anche le operazioni di movimentazione in quanto gli animali devono seguire un percorso già stabilito evitando così sprechi di tempo e fatiche inutili.

Stalla di quarantena

La stalla di quarantena, che ospita gli animali per il periodo dei controlli di quarantena, è composta da 2 aree ognuna delle quali costituita da 8 box con capienza di 1-2 soggetti ciascuno e con sistema di rastrelliera autocatturante. La stalla di quarantena è dotata anche di 1 locale destinato all'immagazzinamento di paglia e fieno utilizzati in un ciclo di quarantena. In questa stalla l'alimentazione è completamente manuale con una distribuzione giornaliera di fieno e di mangime. La lettiera è costituita da paglia

Stalla di Performance test

La struttura della stalla B è un capannone dotato di una corsia centrale che permette il transito degli operatori e la distribuzione meccanica del fieno. Ai due lati della corsia sono disposti i box.

Da un lato vi sono i box multipli ed ognuno può contenere un numero di capi che varia da 6 a 8 in funzione dell'età peso ecc.. I box multipli sono costituiti da una zona di alimentazione, pulita per mezzo di apposite ruspette, e dotata di rastrelliera autocatturante, una zona di riposo su lettiera permanente e un ampio paddock esterno. I box disposti sul lato destro (12) sono box singoli, muniti di rastrelliera autocatturante nella zona di alimentazione e di paglia nella zona riposo. Tutti i box sono muniti abbeveratoi. La somministrazione del concentrato in questa stalla è

completamente automatizzata con erogatori singoli per ogni box singolo, e strutture con autoriconoscimento a trasponder nei box multipli.

Stalla di sosta (tori in attesa di valutazione)

Anche qui la struttura è rappresentata da un capannone con una corsia centrale per l'alimentazione e il transito.

I box sono disposti ai lati per un totale di 30. Hanno tutti accoppiati dei paddock esterni, ruspetta per la pulizia automatica, sistema di distribuzione del mangime computerizzato, rastrelliera autocatturante e abbeveratoi. Anche qui i box presentano una zona riposo ed una zona di alimentazione.

Vi è poi un locale all'inizio della stalla utilizzato come magazzino e contenente i silos per il mangime.

2.3) GESTIONE STALLE

Gestione stalla di quarantena

➤ Attività preliminari all'ingresso dei torelli al CG

Si devono verificare il n° di torelli in ingresso e preparare un uguale n° di box. Successivamente si controllano le scorte di foraggio sufficienti al periodo di quarantena ed eventualmente si fanno nuovi ordini.

➤ Arrivo dei torelli

All'arrivo dei torelli si devono immediatamente controllare tutti i documenti, vale a dire: certificati sanitari, passaporto, certificato di ascendenza; si controlla poi la matricola e il tatuaggio se presente. Successivamente si passa alla registrazione sul registro di stalla, con l'assegnazione del numero di stalla, alla pesata, alla visita veterinaria e ai prelievi di sangue.

➤ Attività di routine

Riguardano principalmente l'alimentazione, viene somministrato fieno ad libitum, ed una quantità di mangime pari a 1 kg per ogni 100kg di peso vivo, distribuita in due razioni, una la mattina e l'altra la sera. Si passa poi al controllo della situazione igienica degli abbeveratoi, dello stato di salute generale dei torelli e alla pulizia dei locali. Due volte alla settimana poi viene cambiata la lettiera dei box.

➤ Attività da svolgere alla fine della quarantena

Al termine della quarantena è necessario effettuare le operazioni di:

Pulizia, lavaggio e disinfezione della struttura

Dopo l'uscita dei torelli dalla stalla e terminate le operazioni di pulizia viene effettuato un vuoto sanitario di almeno una settimana.

Gestione stalla di Performance test e di sosta

➤ Attività di routine

Come prima operazione si chiudono gli animali in zona di riposo con gli appositi cancelli. Si passa poi alla pulizia della mangiatoia dai residui di fieno del giorno precedente, e si azionano poi le ruspette per la pulizia della zona di alimentazione .

Terminate queste operazioni si procede alla distribuzione meccanica del fieno. Lungo la giornata viene poi continuamente sistemato verso il fronte mangiatoia per facilitare la prensione degli animali.

Importante è poi il controllo della salute degli animali e verificare il funzionamento generale di tutte le apparecchiature. Settimanalmente si effettua il rifacimento della lettiera nelle zone di riposo.

Alimentazione

L'alimentazione dei tori è basta su una razione di fieno, distribuito ad libitum, e di mangime. Il fieno in stalla di quarantena viene distribuito manualmente davanti al fronte mangiatoia di ogni box. Per quanto riguarda le stalle di Performance test e di sosta questo viene distribuito e tagliato mediante l'utilizzo del trattore e sistemato successivamente davanti ai box.

Per ciò che riguarda il mangime, nella stalla di quarantena viene anche questo distribuito manualmente in ogni box, dividendo la razione in due parti, mattina e sera. Ad ogni vitello spettano 1kg di mangime ogni 100kg di peso vivo.

La stalla di sosta è dotata invece di un sistema di somministrazione automatico. L'impianto è programmato in modo che ogni singolo box sia fornito di mangime attraverso una coclea collegata ai silos esterni. La razione giornaliera è distribuita in la mattina, ed è costituita da una quantità pari a 0.9-1,5 kg al giorno per animale. Anche la stalla di Performance-test adotta un sistema computerizzato ma mediante l'uso di trasponder. In pratica ogni toro è munito di collare con trasponder (sistema di riconoscimento per il collegamento all'autoalimentatore).

Ogni soggetto è dotato di collare. Per ogni soggetto vengono impostate informazioni che riguardano:

- il numero di stalla
- il numero di trasponder,
- il numero della stazione autoalimentate (box)
- il quantitativo di mangime giornaliero

Il quantitativo di mangime assegnato ai tori della stalla di performance test è di 1kg al giorno per ogni 100kg di peso vivo. Questa quantità può variare secondo le necessità e le esigenze dell'animale.

Il sistema viene programmato di modo che vi sia una distribuzione della razione giornaliera nell'arco delle 24 ore dato che gli animali possono accedere alle mangiatoie liberamente. Come mi è stato spiegato e come ho potuto direttamente constatare la somministrazione avviene in 3-4 volte, quindi gli animali ricevono il mangime ad intervalli di 6-8 ore. Se gli animali si presentano alle tramogge tra un pasto e l'altro in tempi inferiori a questi, non ricevono nulla.

Con questi sistemi automatizzati è possibile tener sotto controllo gli animali e il loro benessere. Infatti è possibile verificare giorno per giorno le variazioni tra quantità assegnata e distribuita. Se queste variazioni sono elevate si deve risalire alla causa ed è un aiuto per capire se il tutto è legato a problemi tecnici (mal funzionamento dell'impianto) o a problemi di salute dell'animale, e quindi intervenire per risolverli. (fonti ANARB. 2003).

Altre operazioni

Dalle varie operazioni di stalla si può capire quanto sia importante la buona gestione degli animali per assicurare il loro benessere ed ottenere così il miglior risultato. È fondamentale seguire le corrette modalità di lavoro, e assicurare le migliori condizioni agli animali, che comprendono, oltre all'alimentazione, il clima ambientale, le condizioni igieniche e le condizioni antistress, che si ottengono trattando gli animali con cautela e riguardo. La buona gestione permette di ottenere tori sani e in salute per un'ottima produzione di materiale seminale

3) PROVE DI PROGENIE

Uno dei fattori limitanti della selezione nei bovini da latte è l'impossibilità di effettuare misurazioni dei principali fenotipi di interesse economico sulla linea maschile. Per ottenere, quindi, una valutazione genetica dei tori è necessario basarsi sulle informazioni provenienti dalle produzioni delle figlie.

A tale scopo le associazioni di razza, istituzionalmente incaricate del miglioramento genetico, hanno la necessità di creare un adeguato programma di prove di progenie atto ad ottenere le informazioni utili per la stima del valore riproduttivo dei maschi della popolazione.

3.1) FASI DELLE PROVE DI PROGENIE

La prova di progenie consiste in una successione continua di una serie di operazioni che possono essere così riassunte:

- Individuare i migliori tori e le migliori vacche disponibili (madri e padri di toro)
- Realizzare accoppiamenti programmati tra questi animali (età -9 mesi). I vitelli nati (età mesi 0) avranno un indice pedigree molto elevato.
- Si procede poi con il Performance test (età 6-14 mesi) nel quale si procedono ad accertamenti di varia natura (morfologici, attitudinali e sanitari) che stabiliscano effettiva l'idoneità del torello alla monta.
- Distribuire in modo limitato e rapido un numero di dosi (circa 1000) per la produzione di figlie in diversi allevamenti. A questo punto il toro è definito *in prova* (15-18 mesi).
- Attendere che le figlie nascano (27 mesi), crescano e vengano fecondate (45-48 mesi), partoriscono (52 mesi) e producano la prima lattazione (60-66 mesi). Il toro in questa fase è *in attesa di valutazione*.
- Le produzioni delle figlie vengono elaborate in un indice che deciderà la carriera del toro: l'eliminazione o l'abilitazione come *toro provato* (55-60 mesi).

Quindi se il toro supera favorevolmente la prova di progenie inizia la sua carriera di riproduttore (toro provato). (G. Pagnacco 1997). A circa 95-99 mesi arriva poi il secondo gruppo di figlie che permettono un'ulteriore valutazione più accurata e

precisa (perché le informazioni e i dati sono più numerosi), la quale da conferma delle buone qualità del toro o meno. Prima che un toro venga provato trascorrono circa 5-6 anni. Tutte le fasi del processo devono quindi essere ottimizzate per poter ridurre e contenere i tempi. Ciò che influenza molto la durata delle prove sono la distribuzione e l'utilizzo delle dosi. Queste dovrebbero essere distribuite molto rapidamente e possibilmente su tutto il territorio (questo per avere dati più omogenei), inoltre dovrebbero essere utilizzate immediatamente (ed evitare che vadano a creare i fondi di bidone). Altri fattori di grande rilievo sono la frazione disponibile di vacche a disposizione per le prove di progenie , il numero di tori messi in prova ogni anno e la scelta delle madri e dei padri di toro. L'efficienza organizzativa e commerciale nella gestione delle prove di progenie sono quindi elementi fondamentali per una produzione zootecnica evoluta e completa. (G. Pagnacco 1997).

4) PERFORMANCE TEST

4.1) INDICAZIONI UTILI PER L'ALLEVAMENTO DI RIPRODUTTORI DESTINATI AL C.G.

I torelli destinati al Centro Genetico devono essere indenni, secondo quanto previsto dalle normative, dalle seguenti patologie:

Brucellosi, Tubercolosi, Leucosi, Tricomoniassi, Leptosirosi, IBR/IPV, BVD/MD. Inoltre devono essere escluse tutta una serie di patologie come ad esempio virosi enteriche e respiratori, clamidiosi, paratubercolosi BSE ecc... Tutte queste precauzioni hanno lo scopo di evitare eventuali problemi di salute dei torelli ospiti, ma soprattutto per non correre il rischio di diffondere delle infezioni sulla popolazione, soprattutto tramite il seme. Il Centro Genetico funziona come un vero e proprio centro di quarantena dove, oltre i vari test normalmente effettuati, vengono eseguiti tutti i controlli sanitari per garantire la produzione di tori sani e in salute. Il maggiore dei problemi riguarda l'IBR per la quale per ora non esistono restrizioni sanitarie relative allo stato sanitario dell'intero allevamento, ed è una delle infezioni che più preoccupano al Centro in quanto nonostante esami sierologici e misure di ordine igienico sanitari, vi è sempre il rischio dell'introduzione di capi infetti. Vi è la possibilità che capi sieronegativi possano ospitare gli Herpesvirus responsabili dell'Ibr. Ciò può avvenire per l'esposizione al virus dei vitelli, in cui gli anticorpi della madre bloccano il virus prima della stimolazione del sistema immunitario dello stesso. Si ha così un'infezione latente in assenza di anticorpi. Il virus però si potrebbe attivare a distanza di tempo (anche anni) anche in quei tori risultati sempre sieronegativi fin dal momento della scomparsa degli anticorpi materni che avviene di regola attorno ai 4-6 mesi. Per tale motivo un vitello non deve assumere colostro contenente gli anticorpi contro il virus dell'IBR proveniente da vacche infette o vaccinate. Difatti tra le varie visite di preentrata è previsto un esame sierologico prima dei 90 gg di vita del vitello per l'accertamento dell'IBR.

Per ciò che riguarda la BVD si deve invece escludere non tanto la presenza di anticorpi, quanto quella del virus. Il virus presenta due forme: citopatogena(morte

cellulare), non citopatogeno (degenerazione cellulare ma non morte). Se una bovina gravida viene colpita dal primo si origina un'infezione generale che porta all'aborto, e successivamente la bovina torna in calore. Se viene colpita dal secondo si origina un'infezione che colpisce anche il feto senza tuttavia arrivare all'aborto. Il vitello che nasce però è immunotollerante. Ciò significa che è un soggetto infetto da virus, ma che non ha anticorpi verso quest'ultimo e quindi può diffondere nell'ambiente alte quantità di virus. Questo perché viene infettato all'inizio della sua vita fetale (tra i 40 e i 120 gg) quando il suo sistema immunitario non è ancora attivo e quindi non produce anticorpi. Successivamente durante il suo sviluppo, il suo patrimonio immunitario diventerà efficiente, (a circa 125 gg) ma prima di questa fase memorizza le cellule di cui è costituito come buone, e verso di esse non produrrà mai anticorpi. In questa fase di riconoscimento considererà proprie anche le cellule del virus e non andrà quindi a contrastarle.

Il virus viene eliminato nell'ambiente dai soggetti immunotolleranti, attraverso escreti, secreti, e liquidi biologici in quanto l'animale è infetto. Un toro immunotollerante non può accedere ai centri di F.A. Per motivi di praticità e comodità l'individuazione dei soggetti immunotolleranti avviene presso il Centro in quanto la promiscuità con gli altri tori, in questa fase non pregiudica il loro stato sanitario. Gli animali immunotolleranti non sviluppano anticorpi, quindi la ricerca del virus può essere limitata ai soggetti sieronegativi per il virus della BVD. (ricerca virologica della BVD). (F. Soffi 2000).

4.2) AMMISSIONE AL PERFORMANCE TEST

Il disciplinare del Libro Genealogico regolamento del Centro genetico prevede che tutti i tori per poter accedere al Performance-test siano in possesso di:

- 1) Requisiti genealogici
- 2) Requisiti sanitari

Requisiti genealogici

Tutti i tori destinati al Performance test devono essere in possesso dei requisiti tecnici previsti dal Disciplinare del Libro genealogico e dal regolamento del Centro genetico. La regolamentazione riguarda i seguenti argomenti:

➤ Requisiti genetici

I riproduttori per poter essere abilitati all'I.A. devono essere iscritti Al Registro genealogico tori.

In questo registro vengono iscritti i tori in possesso dei seguenti requisiti:

- 1) età minima di 8 mesi;
- 2) due generazioni ascendenti dal Libro genealogico;
- 3) in possesso del certificato d'ascendenza e genealogico;
- 4) essere figli: di padre iscritto al Registro genealogico tori ed essere autorizzato alla I.A.; di madre con in possesso i requisiti di madre di toro per l'I.A.

Tali requisiti riguardanti la madre sono: al concepimento, alla nascita oppure all'iscrizione del figlio essa deve avere un rank dell'ITE o in assenza, dell'ITPE, pubblicati, di almeno 99.

Quindi in definitiva al performance test sono ammessi i vitelli con i requisiti per l'iscrizione al Registro genealogico tori la cui madre ,abbia al momento dell'ammissione il rank dell'ITE o in alternativa dell'ITEP, pubblicati, non inferiore a 95.

➤ Età dei torelli

I torelli di norma entrano al centro a circa sei mesi di età. In particolari casi possono essere concesse deroghe per animali che hanno superato tale età. Usciranno poi di norma a 12-14 mesi di età, al completamento di tutte le prove previste.

➤ Gruppi sanguigni

I torelli devono essere in possesso del certificato dei gruppi sanguigni per l'accertamento della paternità e della maternità (ascendenza SI-SI) A questo scopo vengono effettuate due analisi, una prima dell'entrata e una durante la permanenza al centro.

➤ Tare genetiche

Si controlla che il soggetto non sia portatore di patologie genetiche ereditarie

Le tare genetiche che interessano la razza Bruna sono

- *Weaver (mieloencefalopatia degenerativa bovina progressiva),*

TW indica i soggetti non portatori, (W*) e (W) indicano i soggetti portatori. Oggi grazie a test molto affidabili, tutti i tori che entrano nel centro in prova sono testati e devono risultare non portatori per poter entrare al centro genetico. I sintomi di questa patologia si manifesta dopo sei mesi con mancanza di coordinamento tra arti anteriori e posteriori, soprattutto con movimenti molto rapidi. I soggetti hanno problemi nella deambulazione, ad alzarsi e faticano a raggiungere le zone di alimentazione. I soggetti vanno quindi incontro ad un lento ma progressivo deperimento.

- *SMA (atrofia spinale nei vitelli).*

TM indica i soggetti non portatori, (M) e (M) indicano i soggetti portatori. Anche per questa tara è possibile effettuare i test di controllo per verificare che i soggetti in entrata al Centro siano non portatori. Si manifesta solitamente tra le quattro e sei settimane di vita con una progressiva incapacità di assumere una normale posizione in piedi sui quattro arti. Di seguito compare una atrofizzazione delle masse muscolari degli arti e un indebolimento generale. Questa malattia non è facile da riconoscere in quanto gli animali colpiti, muoiono di patologie secondarie (problemi delle vie respiratorie) e il tutto è difficilmente associabile ad un difetto genetico.

- *aracnomelia*

TA indica i soggetti sani, (A*) e (A) indicano i soggetti portatori. Non è ancora disponibile il test, quindi sono da evitare i torelli derivanti da linee di sangue portatrici di questa tara. La sintomatologia si può osservare subito dopo il parto o addirittura durante: i vitelli nascono con gravi malformazioni agli arti posteriori e alla testa. Le ossa in pratica risultano essere più lunghe del normale e le articolazioni deformate e rigide. (A. Pozzati 2002)

La razza bruna deve evitare queste tare per cui i tori portatori non sono più utilizzati, le vacche portatrici sono escluse dagli accoppiamenti, e i giovani individui portatori non sono ammessi alle prove di progenie.

Requisiti sanitari

La profilassi sanitaria e la verifica viene fatta fin dalla stalla di nascita ,poi proseguita al Centro. Infatti, prima i tori sostano nella stalla di isolamento e poi in quella di performance test, dove la protezione continua per tutto il periodo di soggiorno secondo norme ben precise.

I controlli sanitari richiesti per l'ammissione dei torelli al Centro Genetico sono regolamentati da:

- 1) Reg. di Polizia veterinaria
- 2) Regolamento del Centro Genetico

Le norme riguardano: l'allevamento di origine e le caratteristiche sanitarie del soggetto

Il Centro invia ai proprietari, prima dell'entrata del soggetto, la seguente documentazione:

- modello A / scheda per la visita preentrata del soggetto;(non obbligatori)
- indicazioni per il test dell'IBR/IPV.
- indicazioni per la certificazione sanitaria (per accertamenti previsti dal Reg. di polizia Vet.)

➤ Visita preentrata

Visita sanitaria in allevamento del soggetto da parte del veterinario incaricato. Si certifica:

- controllo dello stato di salute generale del animale
- controllo del corretto sviluppo dei testicoli e dell'assenza di eventuali patologie(mono-criptorchidismo).
- controllo dell'assenza di anomalie congenite
- controllo dell'assenza di infezioni cutanee
- controllo della corretta decornazione

Il tutto viene poi riportato sull'apposito modulo

➤ Test dell'IBR/IPV

Bisogna eseguire un prelievo di sangue del soggetto entro e non oltre i 90gg. Sul campione prelevato l'istituto zooprofilattico eseguirà i test ELISA e di sieroneutralizzazione per l'IBR/IPV. L'esito dovrà essere negativo.

In caso di positività il candidato non potrà avere accesso al Centro.

➤ Certificazione sanitaria obbligatoria

L'allevatore, non più di un mese prima della prevista data d'entrata del soggetto, deve contattare l'Asl e richiedere la certificazione sanitaria obbligatoria.

Con questa visita si rilascia una certificazione ufficiale che attesta la provenienza del candidato da un allevamento:

-ufficialmente indenne da TBC

-ufficialmente indenne da Brucellosi

-ufficialmente indenne da L.B.E.

Inoltre il soggetto deve essere sottoposto nei 30gg precedenti l'arrivo all'Centro ai test per la verifica della TBC, L.B.E., e della brucellosi. Tutti gli esiti devono risultare negativi.

Nel certificato si deve inoltre attestare che:

-l'animale è stato sottoposto al test per IBR (entro 90gg) con esito negativo nei 30gg precedenti l'introduzione del animale al Centro.

-l'allevamento di provenienza non sia stato sottoposto a restrizioni di polizia veterinaria, e che l'animale al momento del carico non manifesti segni clinici di malattia infettiva e cutanea.

Documenti di ammissione dei torelli

I Centri di F.A. inviano la domanda di ammissione al Centro. Queste domande devono essere spedite secondo determinate tempistiche, possibilmente tra i 60 e 100 giorni di vita del torello. Questo serve per dare la possibilità al Centro di verificare i requisiti necessari e per poter programmare il calendario delle entrate. In particolare la commissione dei tecnici del libro genealogico e il Centro genetico esamina la scheda genealogica del candidato e provvede a dare una risposta

sull'esito della domanda. In seguito ai controlli, il centro invia la risposta alla domanda di ammissione, allegando:

-modello A(non obbligatorio)

-scheda per la visita preentrata del soggetto;(non obbligatorio)

-modalità di prelievo IBR entro il 90° giorno d'età.

Successivamente, ancor prima dell'entrata, si eseguono degli accertamenti sulle documentazioni, in particolare si controlla che sia stato eseguito il test sul IBR, (e che sia risultato negativo) ,si controlla il certificato d'ascendenza (SS), e si verificano i requisiti genetici previsti.

4.3) PERCORSO DEI TORELLI

Stalla di quarantena

I nuovi soggetti arrivano al Centro alla data concordata. Solitamente le entrate sono quattro in un anno, (febbraio, maggio, agosto, novembre)distribuite lungo tutta la prima settimana del mese prefissato Prima di questa data il Centro si assicura di avvisare i proprietari di come effettuare tutte le procedure necessarie per l'entrata, dando tutti i chiarimenti e le indicazioni utili (invio della risposta di ammissione ,con le indicazioni di quali visite eseguire ,come, le tempistiche, ecc..). Sempre prima della data in questione, il centro controlla che il tutto sia stato eseguito nei modi e nei tempi corretti.

I torelli vengono ricevuti alla stalla di quarantena (A). Prima di essere scaricati si procede al controllo e alla verifica della presenza e della conformità di tutti i documenti che devono accompagnare gli animali: passaporto, certificati sanitari (test IBR, ecc..),documenti di trasporto... Mancanze o non conformità dei documenti possono far escludere il soggetto. Successivamente si controlla lo stato di salute e di benessere degli animali per accertare che non abbiano subito dei traumi lungo il viaggio.

Se tutto ciò risulta in regola si procede allo scarico degli animali e al loro ingresso in stalla.

A questo punto viene assegnato e applicato il numero di stalla e si procede alla gestione del registro di carico e di scarico. Prima di essere sistemati definitivamente nei loro box gli animali vengono pesati, e vengono poi eseguiti dei prelievi di sangue (dal veterinario) del centro per rifare le analisi fatte sul IBR, BVD, Leucosi, brucellosi, TBC. Al termine di tutte queste operazioni gli animali vengono fatti entrare nei loro box. Nei giorni successivi si andranno a effettuare altre analisi per controllare l'assenza di tricomoniasi e di leptospirosi; verrà fatto un trattamento antiparassitario preventivo, e verrà applicato il magnete ruminale.

I nuovi soggetti entrano solitamente nella stalla A a circa 6 mesi di vita e vi rimangono per il periodo di quarantena, che è appunto di 30-40gg, nel quale si attendono gli esiti delle analisi prima accennate e dove giorno per giorno si eseguono le attività routinarie prima descritte. I torelli finiscono quindi, il periodo di isolamento a 7 mesi, e se l'esito delle analisi risulta essere favorevole gli animali vengono trasferiti nella stalla B.

Stalla di Performance test

Trascorso il periodo di isolamento i torelli vengono trasferiti nella stalla del performance test, dove entrano, come già detto ad un'età di 7 mesi. Il trasporto dalle due stalle deve avvenire con molto riguardo per evitare traumi agli animali. Una volta giunti nella nuova stalla, vengono applicati i collari con i trasponder per l'alimentazione automatica, e vengono accompagnati al box singolo, che gli è stato assegnato. Il trasponder deve essere subito attivato, e nei primi giorni è necessario accompagnarli per farli abituare e successivamente verificare che gli animali siano in grado di accedere alla tramoggia. Durante la loro permanenza in stalla si eseguono le attività quotidiane accennate prima, e oltre a queste una volta al mese i torelli vengono pesati, e nei periodi prestabiliti (7-10-13 mesi) vengono fatte le misurazioni biometriche. Qui i soggetti vengono curati, accuditi e seguiti. Raggiunta poi l'età di 11 mesi iniziano la loro fase di addestramento e quindi di performance test. Più precisamente una settimana prima del compimento degli undici mesi i torelli eseguono il loro primo salto che ha la funzione di addestramento ai salti, successivamente per settimane 6, una volta a settimana i torelli, vengono fatti saltare, e su questi test di salto si eseguono tutte le analisi del caso verificando le

attitudini, le prestazioni e il seme del toro. Terminata questa fase, normalmente a circa 13 mesi i tori partono per i centri di F.A., dove inizieranno la loro fase di prova di progenie, dove inizierà la distribuzione del loro seme e la loro valutazione di tori miglioratori.

Stalla di sosta

Nella stalla C sono presenti tori di particolare interesse genetico in attesa di valutazione; qui sostano e vengono ricoverati mentre si attendono i risultati delle loro valutazioni genetiche.

4.4) PROVE AL CENTRO GENETICO

Test al centro

I test eseguiti durante il performance test sono i seguenti:

- **K-caseina.** Per ogni animale viene determinato il genotipo della K-caseina.
- **Cariotipo** Per ogni animale si controlla il cariotipo per rilevare eventuali anomalie cromosomiche
- **Controllo tare genetiche.** Si eseguono solo nel caso non si siano potuti eseguire prima dell'ingresso
- **Valutazioni morfologiche e rilevazioni biometriche.** Le valutazioni hanno lo scopo di verificare che i tori corrispondano, per quanto riguarda l'armonicità e sviluppo della struttura, allo standard di razza. Tali valutazioni sono effettuate all'entrata ed all'uscita dell'animale; quest'ultima viene utilizzata anche per l'iscrizione al Libro genealogico. Le misurazioni sono invece eseguite per controllare il corretto accrescimento del soggetto. Sono effettuate di norma al 7°, 10° e 13° mese d'età.
- **Incrementi ponderali.** I torelli vengono pesati all'arrivo, prima della partenza, e durante la permanenza al centro ogni quattro settimane.
- **Prelievo seme.** Addestramento ai salti e valutazione delle prestazioni dei tori. Si iniziano questi test al raggiungimento della pubertà. Si effettuano poi, una volta a settimana per 6 settimane.

- **Analisi seme.** Il seme prelevato viene analizzato nelle sue caratteristiche principali(concentrazione, volume, motilità, vitalità, morfologia).

Per i primi tre controlli vengono prelevati i campioni biologici necessari, e le analisi sono affidate a laboratori esterni. Direttamente all'interno del Centro si eseguono i rimanenti test, ai quali ho personalmente preso parte.

Valutazioni morfologiche

Viene effettuata una valutazione morfologica di ogni animale all'entrata e all'uscita dal Centro(quest'ultima utilizzata anche per l'iscrizione al Libro genealogico). La morfologia di un soggetto è molto importanti in quanto un toro per poter essere utilizzato come riproduttore, oltre alle caratteristiche di buone produzioni di seme, sia qualitative che quantitative, deve possedere anche ottime caratteristiche morfologiche per poterle così trasmettere alle generazioni successive.

Rilevazioni biometriche

Le valutazioni sono eseguite da un esperto di razza, all'arrivo e all'uscita del soggetto. Quella effettuata all'uscita è considerata ufficiale e verrà utilizzata per l'iscrizione del soggetto al Libro genealogico.

Le misurazioni biometriche sono rilevate al 7°, 10° e 13° mese o comunque ogni tre mesi. Si utilizzano corde e aste metriche. Si rilevano: altezza al garrese, altezza alla groppa, profondità del torace, profondità dell'addome, lunghezza del tronco, lunghezza e larghezza della groppa, altezza del tallone e circonferenza toracica

Incrementi ponderali

I soggetti sono pesati all'entrata, alla partenza e durante il periodo dei test ogni quattro settimane.

Presso nella stalla di quarantena che in quella del performance test sono presenti pese elettroniche che restituiscono una stampata che riporta data, ora, numero del soggetto (previo inserimento) e peso. I tori sono movimentati liberi e singolarmente

dai box alle pese grazie a dei percorsi tracciati da dei corridoi esterni e una volta raggiunta la pesa fatti salire uno alla volta sulla piattaforma. In pratica dopo aver controllato la taratura il toro viene fatto salire sulla pesa, si inserisce il suo numero aziendale e a operazione eseguita si procede alla stampa dei dati.

Lo scopo della rilevazione degli incrementi ponderali e quello di controllare il corretto e omogeneo sviluppo dei soggetti, ma anche quello di aggiornare la quantità di razione giornaliera, variandola a secondo dei fabbisogni degli animali.

Prelievo seme e attività di salto

Con questi test si preleva il seme, si addestrano i nuovi torelli e si ha modo di verificare le attitudini di ogni singolo animale per ciò che riguarda la produzione di seme (qualità e quantità) e la loro libido Questa è una fase molto importante per quanto riguarda il percorso di un torello al Centro, anzi senza dubbio la più incisiva. La buona riuscita di questa operazione influirà significativamente sul futuro del soggetto.

I tori iniziano i loro salti, che avverranno una volta alla settimana, a partire dagli 11 mesi di età circa, per un periodo di sei settimane. Il giorno del salto viene formulato l'elenco dei tori che dovranno compiere l'attività di salto. Nell'elenco sono inclusi anche i torelli in addestramento, e cioè i soggetti che compiranno gli 11 mesi nella settimana successiva. Quest'ultimi sono i nuovi candidati che entrano nel programma di salto, e con una settimana circa, di anticipo, vengono esercitati all'azione meccanica del salto. Tutti i soggetti presenti in elenco vengono bloccati nei loro box e condotti in zona salto, attraverso i corridoi predisposti, con l'aiuto di una corda. Fase questa, in cui bisogna prestare molta attenzione in quanto i torelli sono particolarmente vivaci.

Una volta che i torelli sono giunti in zona salto vanno effettuate le rilevazioni delle misure testicolari. Successivamente si sceglie il toro ruffiano, il quale poi verrà bloccato nella postazione fissa(e verrà sostituito da un altro soggetto dopo 5 o 6 salti).

Il toro in questione è scelto in base a determinati criteri quali: docilità e tranquillità (che si notano subito durante la movimentazione e la preparazione) e in base alle

sue dimensioni che devono essere più o meno compatibili con quelle degli altri soggetti.

A questo punto si passa alla fase di prelievo mediante l'utilizzo delle vagine precedentemente preparate.

Importante è il riempimento d'acqua della vagina la cui temperatura si deve aggirare tra i 40° e i 42° C. Per mantenere costante la temperatura si ripongono le vagine in una stufa termostata e le si estraggono solo al momento del loro utilizzo. Importante è anche la quantità d'acqua e quindi la pressione, che deve essere tale da permettere il completo e sensibile avvolgimento del pene dell'animale durante la fase di eiaculazione

Prima del prelievo (se ne eseguono due a distanza di 10 minuti), i soggetti devono eseguire una o due false monte per raggiungere la massima eccitazione (aumentando così la libido e la quantità di seme prodotta).

Durante la falsa monta con la maggior rapidità possibile, si deve deviare molto delicatamente il pene dell'animale in modo da evitare che possa urtare violentemente contro il ruffiano, evitando così eventuali traumi o lesioni.

Per ciò che riguarda il prelievo vero e proprio , dopo le false monte si recupera la vagina (una per ogni soggetto) nella stufa e si procede con l'operazione.

Nel momento in cui il toro si presta ad eseguire il salto, sempre in modo rapido ,veloce, e con cautela, si va a posizionare la vagina. All'atto del salto oltre alla rapidità e alla prontezza di riflessi è necessaria una certa coordinazione. Bisogna prestare attenzione ai movimenti dell'animale, in quanto, se eccessivamente bruschi o particolarmente esuberanti, quest'ultimo può andare a colpire o urtare l'operatore.

A operazione conclusa la vagina deve essere agitata per permettere che tutto il seme confluisca nella provetta di raccolta; dopo di che si passa all'analisi in laboratorio del seme raccolto.

Alla fine di ogni secondo salto il toro viene riportato nel proprio box.

Analisi del seme

Del seme prelevato vengono analizzate le principali caratteristiche quali: volume, concentrazione, vitalità, motilità e morfologia.

Al primo salto vengono rilevati e registrati il volume dell'eiaculato e la concentrazione di spermatozoi per cc. di seme. Il volume si ricava dalla scala graduata della provetta nella quale è contenuto il seme. Per ciò che riguarda la concentrazione si diluiscono 20 μ l di seme in una cuvette (nella quale vi è una soluzione di cloruro di sodio) che viene inserita nel colorimetro. Bisogna poi trasformare il valore che compare sul display (che indica la rifrazione della luce ,filtrata, sugli spermatozoi) in milioni di spermatozoi per cc. grazie ad una curva di conversione dei valori.

Del secondo salto ,oltre a volume e concentrazione, vengono rilevati anche la motilità e la vitalità ed infine la morfologia. Motilità e vitalità si valutano diluendo una goccia di seme sul vetrino della camera di Makler (con la quale è appunto possibile controllare la qualità del movimento e la vitalità degli spermatozoi) e contemporaneamente vengono registrate 3 sequenze da 15 secondi che saranno analizzate con un analizzatore automatico per eseguire la corretta valutazione della motilità progressiva e totale.

Da ogni 2°prelievo viene diluita una minima parte di seme in microprovette contenenti NaCl.

Con questa soluzione vengono allestiti i vetrini di controllo per le valutazioni morfologiche (eseguite per ogni sessione di salto).

Alla sesta sessione di salto viene congelato il primo eiaculato del soggetto che sta terminando il Performance test.

Dopo aver controllato a fresco la qualità seminale si diluisce l'eiaculato, con il mestruo diluente a 37°C e si pone la provetta nella vetrina refrigerata a +4°C

Si attendono poi almeno due ore dalla diluizione e poi si possono confezionare le paillette

Successivamente si procede al congelamento delle dosi sui vapori di azoto i (l'azoto è distribuito in un contenitore di polistirolo in quantità definita perché le paillette siano a -140°C)

Dopo 7-10 minuti si raccolgono le paillettes e si conservano in azoto liquido nei contenitori criogenici. (fonti ANARB. 2003).

5) ANATOMIA E FISIOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE MASCHILE

5.1) APPARATO GENITALE MASCHILE

L'apparato genitale maschile è composto dai testicoli (le gonadi maschili), dall'epididimo, dalle vie seminali con le annesse ghiandole accessorie e dal pene. La funzione dell'apparato è quella di produrre gli ormoni sessuali maschili deputati al mantenimento dei caratteri sessuali secondari ed alla estrinsecazione del comportamento sessuale, nonché quella di produrre le cellule germinali maschili e di immetterle nell'apparato genitale femminile tramite la copulazione che segue precise modalità comportamentali (ricerca del partner e corteggiamento, copulazione) e fisiologiche (erezione, emissione, eiaculazione).

Scroto ed invogli testicolari

Lo scroto è un'evaginazione cutanea posta nella regione inguinale (ruminanti equini) o perineale (suino carnivori). L'epidermide si presenta ricca di ghiandole sudoripare e sebacee. La tela sottocutanea aderentissima alla cute, e dotata di numerose fibrocellule muscolari, con presenza di fibre elastiche, e prende il nome di dartos, che forma il setto scrotale fra i due testicoli.

I testicoli sono ricoperti da una serie di invogli:

- fascia spermatica esterna: formata da una doppia lamina di connettivo fibroso da connettivo lasso, e adesa al dartos.
- muscolo cremastere: formato da fasci di fibre muscolari striate
- fascia spermatica interna: intimamente associata al foglietto parietale della tunica vaginale
- tunica vaginale: derivata dal processo vaginale del peritoneo, è suddivisa in due foglietti: parietale e viscerale, che delimitano la cavità vaginale.

L'arteria testicolare, il plesso pampiniforme, i vasi linfatici, i nervi, insieme al dotto deferente costituiscono il funicolo spermatico.

Testicoli

I testicoli sono le gonadi maschili, sono organi pari, accolti, assieme all'epididimo, nello scroto. Hanno forma ovoidale o sferica a seconda della specie. I testicoli hanno struttura ghiandolare ed il parenchima è delimitato dalla tonaca albuginea (lamina di tessuto connettivo). Dalla tonaca albuginea si dipartono numerosi setti che penetrano all'interno del testicolo, dividendolo in lobuli, e che si riuniscono successivamente per formare il mediastino testicolare. Ogni lobulo si compone di alcuni tubuli ad andamento tortuoso, detti tubuli seminiferi contorti (componente esocrina). I tubuli di ciascun lobulo sono contenuti in uno stroma connettivale di sostegno, nel quale si trovano anche cellule di aspetto epiteliale aventi significato di elementi endocrini, le cellule interstiziali o del Leydig. Ogni tubulo si compone di una membrana basale su cui poggia un epitelio particolare, caratterizzato da due tipi di cellule: quelle seminali o germinative e quelle di sostegno o nutritive del Sertoli. Le cellule germinative rappresentano le varie fasi del processo attraverso il quale, partendo dagli spermatogoni, si giunge agli spermatozoi. Questo processo prende anche il nome di spermatogenesi. Le cellule del Sertoli hanno la funzione di nutrimento supportando a livello metabolico le cellule germinali permettendo il passaggio delle varie sostanze. Inoltre grazie alla loro attività secretoria sono coinvolte nella produzione del liquido testicolare. Fra le cellule del Sertoli è presente un sistema di giunzioni intercellulari che vanno a costituire la membrana emato-testicolare. Quest'ultima molto importante per evitare che si verifichino fenomeni di autoimmunità anti-spermatozoo in relazione al fatto che la competenza immunitaria è acquisita a livello embrionale prima della formazione dei primi spermatozoi che avviene in epoca pre-pubere. Queste cellule infine convertono il testosterone prodotto dalle cellule del Leydig in diidrotestosterone. I tubuli seminiferi contorti in corrispondenza dell'apice di ciascuna loggia, presentano decorso rettilineo e vengono perciò denominati tubuli retti. Questi dopo in breve percorso, confluiscono a livello mediastinico nella rete testis. Da questa si dipartono una serie di condottini

efferenti che confluendo nel dotto dell'epididimo concorrono alla formazione dell'epididimo stesso.

Epilidimo

. Dal punto di vista funzionale interviene nella maturazione e nel deposito degli spermatozoi. L'epididimo è suddiviso in testa, composta dai canalicoli efferenti e dalla prima porzione del proprio dotto, dal corpo e dalla coda. Dal punto di vista funzionale, la testa è principalmente coinvolta nell'assorbimento del liquido testicolare secreto dalle cellule del Sertoli, il corpo interviene nel processo di maturazione degli spermatozoi mentre la coda è interessata al deposito degli spermatozoi maturi.

La maturazione epididimiale degli spermatozoi

Lo spermatozoo testicolare per essere fecondante deve subire un processo maturativo nell'epididimo. La maturazione epididimale degli spermatozoi riguarda soprattutto due componenti: la membrana plasmatica ed il nucleo. A livello della membrana plasmatica avviene l'acquisizione di proteine di superficie che intervengono nella stabilizzazione dello stato di membrana e rappresentano il fattore di decapacitazione (che determina il blocco della capacitazione) che verrà perso a contatto con i secreti dell'apparato genitale femminile. Durante il passaggio lungo l'epididimo gli spermatozoi acquisiscono la motilità che li contraddistingue. Nel toro è stata inoltre evidenziata una proteina che stimola la motilità, probabilmente secreta dalle cellule epiteliali epididimali. Questa proteina è termostabile. L'attività di enzimi lisosomiali determina lo scivolamento della goccia citoplasmatica dal collo fino all'annulus, aspetto caratterizzante, dal punto di vista morfologico, la maturazione epididimale.

5.2) TERMOREGOLAZIONE DEL TESTICOLO

Perché la spermatogenesi possa avvenire regolarmente, la temperatura del testicolo deve essere inferiore a quella del corpo. Esistono vari meccanismi con i quali viene regolata la temperatura scrotale. Un primo meccanismo di dispersione del calore è dato dalla ricca produzione di secreto delle numerose ghiandole sudoripare e sebacee presenti nell'epidermide dello scroto. Un secondo meccanismo riguarda la componente muscolare dello scroto: in caso di bassa temperatura ambientale, la contrazione del dartos e del muscolo cremastere interno determinano l'avvicinamento dei testicoli al corpo con conseguente elevazione della temperatura scrotale mentre, in caso di elevata temperatura ambientale, il rilasciamento delle sopraccitate strutture muscolari determina l'allontanamento dello scroto dal corpo con conseguente abbassamento della sua temperatura. Un terzo meccanismo è dato dallo scambio di calore in controcorrente fra il sangue arterioso caldo afferente ai testicoli e quello venoso, con temperatura inferiore, refluo dai testicoli stessi. Questo meccanismo è reso possibile dall'intima connessione fra le arterie testicolari ed il plesso venoso pampiniforme che le circonda a livello di funicolo spermatico. Complessivamente la temperatura dei testicoli è nel toro di 5 gradi centigradi inferiore a quella del corpo (33 °C vs 38 °C). Se qualcuno dei sopraccitati meccanismi fisiologici di termoregolazione scrotale viene meno o se la temperatura ambientale è talmente elevata per cui quegli stessi meccanismi si rivelano insufficienti, si avrà un deficit più o meno notevole della spermatogenesi. Tale deficit sarà evidenziabile tramite analisi spermatica varie settimane dopo l'insulto termico testicolare, dopo l'esaurimento delle riserve epididimali e l'eiaculazione dei primi spermatozoi prodotti durante l'elevazione termica scrotale. Il periodo necessario per l'evidenziazione del danno corrisponderà pertanto alla durata della spermatogenesi che varia nelle differenti specie.

5.3) SPERMATOOZOO

Lo spermatozoo è composto dalla testa e dalla coda, a sua volta suddivisibile in collo, parte intermedia, parte principale e parte terminale. L'intera cellula è rivestita dalla membrana plasmatica la cui componente proteica ha una forte caratterizzazione zonale.

Testa. È caratterizzata dalla presenza di un nuclei con cromatina molto compatta la quale è circondata da una membrana nucleare priva di pori. La forma della testa è ovale per facilitare, la progressione nelle varie secrezioni dell'apparato genitale femminile. La porzione anteriore della testa è circondata dall'acrosoma. L'acrosoma è costituito da una membrana esterna e da una interna, con interposta una matrice che contiene vari enzimi idrolitici (ialuronidasi, acrosina, enzima penetrante la corona), che intervengono maniera determinante durante il processo di fecondazione. Questi enzimi vengono attivati (come nel caso dell'acrosina) e liberati con la reazione acrosomale, ultima fase del processo di capacitazione che avviene nel tratto genitale femminile.

Collo. È formato dal centriolo prossimale, dal segmento di connessione, placca densa posta in una convessità alla base del nucleo, e da una serie di nove colonne segmentate fibrose, che si continuano con le fibre dense esterne. (G Aguigini et al. 2000)

Parte intermedia.

L'anima centrale del segmento intermedio, in realtà presente anche lungo tutta la coda è costituita dall'assonema. Questo è composto da nove paia di filamenti o microtubuli disposti circolarmente intorno a due filamenti centrali. Nel segmento intermedio questo complesso di 9+2 filamenti è avvolto da nove fibre dense e grossolane che sembrano essere in correlazione con le nove doppiette dell'assonema. (Hafez, E.S.E. 1984).

Parte centrale. Terminata la parte intermedia, con un anello denso, le fibre dense sono ricoperte da una guaina fibrosa, composta da una serie di coste trasversali e da due lunghi ispessimenti longitudinali che vanno fondendosi con due fibre dense esterne che da nove diventano sette.

Parte terminale. È composta solamente dalla membrana plasmatica che circonda l'assonema. (G Aguigini et al. 2000)

5.4) ANOMALIE DEGLI SPERMATOZOI

Anomalie acquisite

Le anomalie degli spermatozoi possono essere primarie, secondarie o terziarie. Le anomalie primarie sono dovute a turbe della spermatogenesi, mentre le anomalie secondarie si verificano durante il transito degli spermatozoi lungo l'epididimo. Il danneggiamento degli spermatozoi durante o dopo l'eiaculazione o la manipolazione per l'I.A. va sotto il nome di anomalia terziaria. In generale , la fertilità potenziale è ridotta nel caso di elevata percentuale di spermatozoi con anomalie primario e secondarie. Per l'esame di routine gli spermatozoi vengono classificati come segue: testa anomala o staccata, gocce citoplasmatiche localizzate in corrispondenza della porzione prossimale, centrale, o distale del segmento intermedio, coda avvolta a spirale o curva e altre anomalie. (Hafez, E.S.E. 1984).

Anomalie ereditarie

Una varietà di anomalie ereditarie degli spermatozoi può causare sterilità o ipofertilità nei tori o nei verri in quanto interferisce con la fecondazione (Blom, 1973; Bishop 1972; Saacke et al. 1968) .Le alterazioni di questo tipo che interessano la testa sono: l'effetto diadema, che si manifesta con un invaginazione della membrana nucleare; Lo spermatozoo knobbed , così chiamata perché tutti gli spermatozoi dell'eiaculato presentano un ingrossamento disposto eccentricamente sull'acrosoma (rilevato prevalentemente nei tori frisoni). Altre anomalie sono: la decapitazione dove gli spermatozoi colpiti perdono la coda in corrispondenza della testa dell'epididimo. Nel difetto dell'attorcigliamento, il tratto principale della coda è strettamente avvolto e ripiegato sopra il segmento intermedio, dando l'impressione di una coda molto breve. Un altro difetto, rilevato in 5 tori Friesian sterili, è quello della pseudogoccia. È caratterizzato da un ingrossamento rotondeggiante o allungato del segmento intermedio. A causa dell'ereditarietà delle anomalie strutturali degli

spermatozoo, che provocano sterilità o ipofertilità deve essere effettuato un attento esame microscopico degli spermatozoi di tutti i giovani tori da riproduzione prima che vengano impiegati per l'IA. (Hafez, E.S.E. 1984).

ANALISI SVILUPPATA

6) PRESENTAZIONE

L'inseminazione artificiale è un'efficace biotecnologia che facilita la produzione di tori miglioratori, promuove il veloce miglioramento genetico ed incrementa i profitti (Brito, L.F.C. et al., 2002). Ciò è possibile in quanto un numero esiguo altamente selezionato di animali è in grado di produrre spermatozoi sufficienti per inseminare migliaia di femmine all'anno. Oltre a questo bisogna ricordare i notevoli vantaggi della I.A. che sono: controllo delle malattie veneree, sicurezza di poter eliminare i cattivi riproduttori, avere una più accurata e documentazione degli incroci, possibilità di effettuare la sincronizzazione degli estri, e i vantaggi economici legati a tutto questo (Hafez, E.S.E. 1984).

Nella zootecnia attuale e soprattutto nel campo del miglioramento genetico ci si affida ormai abitualmente alla tecnica della I.A, ed è quindi molto importante conoscere i fattori che agiscono sulla produzione di seme e sulla sua qualità. Molte ricerche indicano tra i fattori ambientali, la temperatura, come causa di influenza sulla produzione di sperma. La riproduzione può essere influenzata dal calore; al di sopra di alti valori di temperature e di umidità i meccanismi di termoregolazione corporei sono incapaci di aumentare la perdita di calore dell'animale, e l'incremento della temperatura interna crea problemi ai limiti fisiologici (Chemineau, P. 1994).Lo stress da calore decrementa i tassi di concepimento e aumenta la mortalità embrionale nei bovini (Wolfenson, D. et al., 2000) e diminuisce la qualità del seme di toro (Johanson, J.E., et al. 1963; Skinner, J.D., and Louw, G.N. 1966) .Nel suino il volume di sperma è significativamente inferiore durante l'estate quanto durante la stagione invernale e piovosa. La concentrazione risulta essere più bassa durante l'estate la stagione non sembra invece influire sulla motilità o sulle anomalie o sulla libido (Kunavongkrit, A., Prateep, P. 1995). Sempre nel suino altri studi hanno rilevato una correlazione positiva tra volume e concentrazione del seme per eiaculato, tra dose per eiaculato e motilità, mentre vi è una correlazione negativa osservata tra volume e concentrazione seminale per ml. Lo studio rileva anche

correlazioni significative tra percentuale di anomalie morfologiche e le temperature ambientali; le alte percentuali di anomalie negli spermatozoi si osservano maggiormente quando le temperature ambientali superano i 30°C. Risulta anche che la concentrazione si abbassa durante i mesi più caldi dell'anno (Alcantara A, Saliendra, I. J. S. 2001). Nei tori l'incremento della produzione di seme è associata all'aumento del volume e della lunghezza dell'arteria testicolare. La qualità seminale diminuisce quando le temperature oltrepassano i limiti fisiologici, conseguentemente vi è un incremento del metabolismo e della richiesta di ossigeno, le quali non possono prontamente supplire, e il tutto è causato dal flusso di sangue testicolare limitato. Il minor rapporto tra la lunghezza e il volume dell'arteria testicolare con il volume dei tessuti testicolari che si verifica alle alte temperature, determina un minor afflusso di sangue testicolare che li rifornisce; questo suggerisce che potrebbe essere il principale limite (Brito L.F.C., Silva A., Barbosa R., Kastelic J. 2004).

7) OBIETTIVO

L'obiettivo della seguente analisi è di verificare se fattori ambientali (temperatura, umidità), età e numero di prelievo hanno influenza sulla quantità e sulla qualità dello sperma prodotto. Più precisamente i fattori accennati sono stati messi a confronto con le caratteristiche seminali quali: concentrazione, motilità e morfologia. I dati provengono dalle sessioni di salto di giovani torelli di razza Bruna nella fase di Performance test tenutesi dal 1997 al 2003.

8) MATERIALI E METODI

8.1) DATI AMBIENTALI

I dati ambientali di cui si è tenuto conto sono temperatura massima, minima e umidità relativa raccolte giornalmente dal 1997 al 2003 mediante termometro ed igrometro, rilevate nella struttura comune nella quale i tori sono accuditi e vengono eseguiti i prelievi.

8.2) DATI DEL SOGGETTO E DATI PRELIEVO

I soggetti che sono stati presi in considerazione sono giovani torelli di razza Bruna con un'età compresa tra gli 11 e 15 mesi. Il seme (dal quale sono stati ricavati i dati) è stato raccolto nel periodo del loro performance-test, il quale ha una durata di 6 settimane. I torelli una volta raggiunta l'età di undici mesi, iniziano la loro attività di salto; il seme viene prelevato una volta alla settimana e per ogni sessione di salto si eseguono, sullo stesso soggetto, due prelievi a distanza di circa 10 minuti. Per l'attività di salto è stata utilizzata la vagina artificiale e per stimolare i tori si è utilizzato un ruffiano. Il prelievo vero e proprio deve essere preceduto da almeno due false monte che hanno lo scopo di aumentare la libido e i quantitativi di seme.

8.3) ANALISI DEL SEME

Ciò che si è tenuto in considerazione nelle analisi del seme e che si è analizzato sono: volume, concentrazione, motilità e morfologia degli spermatozoi

Per le analisi di laboratorio servono: provette di plastica, glicerolo, cuvette, puntali, pipette graduate, mestruo diluente, microscopio, camera di Makler, cloruro di sodio, colorimetro

Mettere nel bagnetto termico (a 37°C circa) il mestruo diluente congelato al momento della sua preparazione

Preparazione del mestruo diluente:

- Mettere il flacone del diluente in bagnomaria a 32/34 °C, per ca. 10 minuti.
- Mettere un matraccio con 400 ml., precisi, di acqua bidistillata, in bagno maria a 32/34 °C.
- Versare i 100 ml. Di diluente concentrato nei 400 ml. di acqua, risciacquare due volte il flacone del diluente con la soluzione ottenuta.
- Omogeneizzare bene l'insieme, la soluzione è pronta per essere utilizzata..

Subito dopo aver preparato la soluzione. si congelano piccole quantità nel congelatore che si conservano per almeno 8 mesi.(si utilizzano le provette di plastica tappate o piccoli flaconi da 100 cc.)

Lo scongelamento va fatto il più rapidamente possibile, immergendo il flacone di soluzione congelata in bagno maria a +32/34 °C per 15 minuti in modo che la soluzione sia omogenea una volta che il prodotto è scongelato.

- Preparare un n° di microprovette di plastica equo al n° di torelli in elenco contenenti una piccola quantità di NaCl
- Preparare le cuvette in n° doppio al n° di torelli in elenco contenenti un cc di soluzione al 7% di cloruro di sodio
- Preparare un n° di microprovette di plastica equo al n° di torelli in elenco
- contenenti 200cc (P100) di diluente, al quale andranno aggiunti 100cc di seme del secondo salto.

Preparazione della soluzione al 7% di cloruro di sodio

Pesare 7 o 14 gr. di cloruro di sodio, portare a 100 o 200 cc con acqua distillata e omogeneizzare utilizzando l'agitatore fino a che la soluzione diventa limpida.

La soluzione va protetta con parafilm e conservarla a temperatura ambiente.

Al primo salto vengono rilevati e registrati il volume dell'eiaculato e la concentrazione di spermatozoi. per cc. di seme utilizzando la pipetta da 100µl. Il volume del eiaculato si ricava leggendo la scala graduata della provetta in cui è contenuto. Per quanto riguarda la concentrazione diluire 20µl di seme in una cuvette preparata con la soluzione di cloruro di sodio, agitarne il contenuto utilizzando un pezzo di parafilm, inserirla nel colorimetro, e trasformare il valore che compare sul display (che indica la rifrazione della luce, filtrata, sugli spermatozoi) in milioni di spermatozoi per cc. grazie ad una curva di conversione dei valori.

Del secondo salto, oltre a volume e concentrazione, vengono rilevati anche la motilità e la vitalità ed infine la morfologia. Motilità e vitalità si valutano diluendo una goccia di seme sul vetrino della camera di Makler (con la quale è appunto possibile controllare la qualità del movimento e la vitalità degli spermatozoi) e contemporaneamente vengono registrate 3 sequenze da 15 secondi che saranno analizzate con un analizzatore automatico per eseguire la corretta valutazione della motilità progressiva e totale.

Da ogni 2°prelievo viene diluita un'aliquota di seme, pari a 100cc (P100) nelle micro provette già preparate con i 200 cc di diluitore.

Una minima aliquota di questa soluzione va diluita nelle micro provette contenenti NaCl. Con questa soluzione vengono allestiti i vetrini di controllo per le valutazioni morfologiche (eseguite per ogni sessione di salto). Per la morfologia si vanno ad analizzare le eventuali anomalie della testa, parte intermedia, e delle code, le percentuali di teste staccate, gocce citoplasmatiche e di code piegate, facendo poi un totale delle anomalie primarie e totali. La valutazione morfologica e quindi la ricerca di possibili anomalie negli spermatozoi si esegue con un metodo chiamato "in bianco". Durante la preparazione del vetrino alla goccia di seme si aggiunge solamente una sostanza oleosa trasparente (che ha solo lo scopo di risaltare la visione) e si procede poi all'osservazione e quindi alla valutazione per mezzo del microscopio.

8.4) CREAZIONE DEL DATA SET DI DATI

Una volta rilevati tutti i dati di campo si è proceduto all'aggregazione dei dati in modo idoneo per l'effettuazione delle analisi successive.

E' stata calcolata la media settimanale delle temperature minime e massime e dell'umidità.

Nel data set viene riportata una stringa di dati (record), per ogni toro e per ogni sessione di salto. Ad ogni record sono state abbinate le temperature medie registrate nella settimana di salto e nelle 5 settimane antecedenti alla stessa.

Per ogni record inoltre grazie alla registrazione della data di nascita del soggetto è stata calcolata l'età al salto. Per l'analisi statistica è stato necessario esprimere le età in mesi.

Inoltre ad ogni salto è stata abbinato il numero progressivo del salto in quanto le caratteristiche del materiale seminale variano progressivamente durante l'addestramento.

8.5) ANALISI STATISTICHE

Come prima analisi è stata calcolata la media mensile delle temperature e delle umidità, per mettere in rilievo il loro andamento negli anni e quindi andare a valutare l'andamento climatico stagionale e le differenze tra le varie annate.

Per mezzo del programma di analisi statistica SAS si è proceduto poi al calcolo dei seguenti correlazioni:

1. le correlazioni tra le componenti della qualità seminale;
2. le correlazioni tra le componenti della qualità seminale con le variabili ambientali: medie della temperatura minima, massima e dell'umidità
3. le correlazioni tra la qualità del materiale seminale e numero di prelievo e l'età.

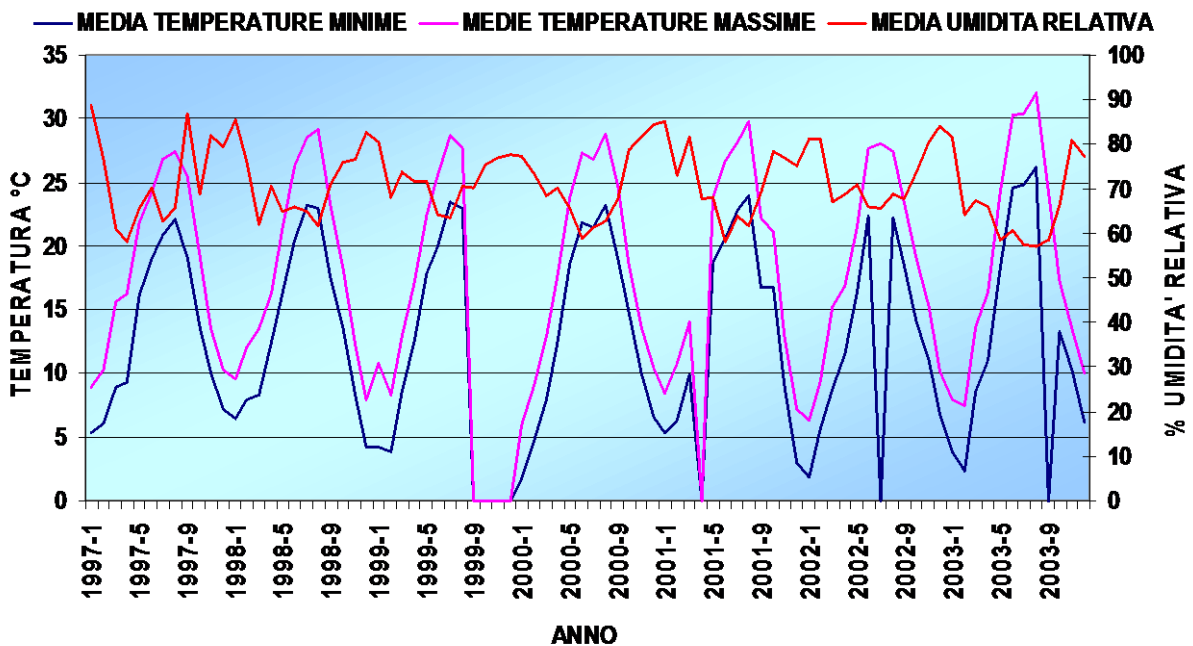
Le analisi successive sono state condotte sulle caratteristiche qualitative del materiale seminale: concentrazione, teste , parti intermedie e code anomale, teste staccate, gocce citoplasmatiche, code piegate, la motilità totale e progressiva. Il modello utilizzato prende in considerazione le umidità, temperature minime e massime medie delle 5 settimane antecedenti il prelievo, l'età al prelievo e il numero progressivo del prelievo.

La risoluzione del modello è stata calcolata con la procedura GLM del programma di analisi statistiche SAS.

9) RISULTATI

Nel grafico della figura 1 è riportato l'andamento delle variabili ambientali medie mensili negli anni che vanno dal 1997 al 2003. Analizzando il grafico si notano le variazioni delle temperature e dell'umidità lungo l'alternarsi delle stagioni. Si osserva che non vi sono netti scostamenti tra le temperature massime e minime quando queste sono comprese in valori accettabili. Le divergenze maggiori si possono notare invece in prossimità dei picchi, nei quali sono evidenti escursioni termiche più marcate. Per quanto riguarda l'umidità ha un andamento meno uniforme; da sottolineare però il fatto che tende a diminuire tra picchi delle temperature massime, ed aumentare nei periodi più freddi.

Figura 1: Andamento dei fattori ambientali medi mensili dal 1997 al 2003. Si considerano temperatura massima minima (°C) e umidità relativa (%).



Nella tabella 1 sono riportate le correlazioni tra le variabili ambientali e le componenti della qualità e quantità seminale. In blu sono messe in evidenza le correlazioni altamente significative ($P < 0,01$), mentre in viola sono riportate quelle significative ($P < 0,05$). Si può notare come non vi sia alcun legame tra l'età e le componenti

della qualità seminale, questo dovuto forse al fatto che i soggetti presi in esame hanno pochi mesi di differenza tra loro e quindi non si riescono a mettere in evidenza eventuali diversità tra una fascia e l'altra d'età. Diverse sono le informazioni che risultano dal numero di prelievo (NPRE). Si possono notare molte correlazioni con valori molto bassi, i quali indicano che, i legami tra le caratteristiche considerate con NPRE, non sono poi così forti, ma in ogni caso altamente significative. È interessante mettere in evidenza che le correlazioni risultano essere per la maggior parte negative, indicando perciò che ad ogni prelievo eseguito il numero di anomalie diminuisce, al contrario invece della concentrazione che incrementa. Ricordando che i salti vengono eseguiti una volta alla settimana questo potrebbe essere utile per poter affermare che con la progressiva crescita e quindi con il completamento dello sviluppo e della maturità sessuale gli animali migliorano la loro qualità e produzione seminale. Si può ipotizzare che il numero di prelievo considerando l'andamento settimanale di ogni singolo soggetto risulta essere più informativo, rispetto all'età che confronta soggetti di fasce molto simili e per ciò non ci da risultati significativi. Per ciò che riguarda le temperature si nota che non vi è nessun legame interessante con i dati delle componenti delle anomalie seminali quando queste ultime sono considerate singolarmente. Si evidenzia invece una più stretta relazione sulle voci totali (anomalie totali, anomalie totali primarie e secondarie,) nelle quali ogni singola componente interagisce con le altre e quindi si hanno risultati più visibili. Le correlazioni altamente significative hanno valori bassi, quindi i rapporti che legano i vari dati non sono così forti; in ogni caso sono utili per ipotizzare che eccessi di temperatura, vanno ad influire sul seme decrementando soprattutto la qualità, perché aumentano le anomalie. E' interessante notare come l'umidità abbia influenza sulla maggior parte dei dati presi in considerazione, soprattutto sui dati di tutte le anomalie totali. Si può pensare che l'umidità sia coinvolta però solo in modo secondario e che possa cioè essere legata in qualche modo alla temperatura: valori accettabili di temperatura, ma con umidità elevate aumentano il calore percepito dagli animali, avendo così conseguenze negative. E' inoltre da sottolineare il fatto che le anomalie primarie (dovute a turbe durante la spermatogenesi) siano correlate con tutti gli effetti climatici qui considerati e che conseguentemente la loro quota influisca molto sulle anomalie totali; ciò può suggerire che i fattori ambientali, abbiano un'influenza più marcata durante il momento della spermatogenesi, che evidentemente è la fase più

delicata. Questo a conferma che le temperature, soprattutto quelle eccessive, hanno effetto sulla qualità seminale andando ad influire sui limiti fisiologici degli animali rappresentando una fonte di stress. Come si può osservare dalla tabella, non sono state riscontrate correlazioni significative e informative tra fattori ambientali, età e numero di prelievo con la motilità, sia totale, che progressiva.

Tabella 1: correlazioni tra componenti di qualità/quantità dello sperma e le variabili ambientali

 CORR. ALTAMENTE SIGNIFICATIVA  CORR. SIGNIFICATIVA

	MIN	MAX	Umid	ETA	NPRE
concA	0,04089	0,03785	-0,00225	0,04118	0,14831
concB	0,04657	0,04077	0,01742	0,03811	0,14635
test	0,08858	0,0953	-0,14311	0,00428	-0,08399
parte	0,03449	0,04021	-0,12566	0,00949	-0,07364
code	0,01335	0,02509	-0,09184	0,01741	-0,03252
tot 1	0,0692	0,07651	-0,14881	0,00794	-0,08523
stac	0,06444	0,0754	-0,14874	-0,00084	-0,05489
gocce	0,01552	0,02166	-0,06624	-0,01078	-0,07498
piega	0,00237	0,01382	-0,06894	0,01956	-0,03035
tot2	0,05174	0,06354	-0,1401	-0,00331	-0,07931
anot	0,05132	0,06036	-0,16456	0,00405	-0,09235
mott	-0,03861	-0,04441	0,04839	-0,0295	-0,07005
motPP	0,01397	0,00383	0,04893	0,02543	0,09708

LEGENDA

ETA = numero di prelievo	stac = testa staccate
NPRE = età in mesi	gocce = gocce citoplasmatiche
concA = concentrazione del primo salto	piega = code piegate
concB = concentrazione del secondo salto	tot2 = anomalie secondarie totali
test = anomalie della testa	anot = anomalie totali
parte = anomalie della parte intermedia	mott = motilità totale
code = anomalie della coda	motPP = motilità progressiva
tot 1 = anomalie primarie totali	

La tabella 2 mostra le correlazioni tra le componenti della qualità e quantità seminale. Anche qui le correlazioni altamente significative sono riportate in blu. Come ci si aspettava la maggior parte dei dati sono legati tra loro e le correlazioni sono altamente significative. Si può notare come sulle anomalie primarie totali il peso maggiore è rappresentato dalle anomalie delle teste e delle parti intermedie, così come le teste staccate influiscono molto sul totale delle anomalie secondarie. Sempre le anomalie alla testa risultano essere incisive sul totale di tutte le anomalie riscontrate.

Per quanto riguarda le concentrazioni si può osservare che sono correlate negativamente con tutte le voci delle anomalie morfologiche; ciò indica che aumentando la concentrazione queste diminuiscono, evidentemente perché il loro effetto si diluisce. Stesso comportamento lo ha anche la motilità, sia totale che progressiva: sperma con elevate anomalie risulta essere meno mobile e vitale. Si può osservare che le correlazioni più alte si riscontrano nella colonna delle anomalie totali. Bisogna ricordare che queste contengono, oltre alla quota delle anomalie totali primarie e secondarie, anche le informazioni apportate dalle anomalie terziarie, causate al momento della manipolazione del seme durante o dopo il prelievo, e perciò è influenzate anche da queste ultime.

Tabella 2: correlazioni tra le componenti della qualità e della quantità seminale

 CORR. ALTAMENTE SIGNIFICATIVA  CORR. SIGNIFICATIVA

	concaA	concaB	test	parte	code	tot1	stac	gocce	piega	tot2	anot	norm	mott	motPP	
concaA	1	0.49531	-0.00881	-0.00583	-0.01196	-0.00753	0.03678	-0.04740	-0.00244	-0.00301	0.00058	0.00430	-0.09063	0.17413	concaA
concaB		1	-0.09375	-0.07899	-0.04299	-0.09343	-0.02740	-0.06449	-0.01629	-0.05574	-0.08116	-0.06322	-0.10700	0.28498	concaB
test			1	0.69571	0.42676	0.93553	0.55402	0.42807	0.39829	0.63542	0.90604	0.82554	-0.16298	-0.14100	test
parte				1	0.45378	0.90130	0.56013	0.44440	0.39551	0.64748	0.88719	0.78133	-0.28355	-0.24597	parte
code					1	0.51057	0.33629	0.28242	0.32182	0.41578	0.50776	0.50682	-0.00729	-0.03491	code
tot1						1	0.60547	0.47426	0.43417	0.69872	0.97529	0.87841	-0.34432	-0.30130	tot
stac							1	0.33768	0.20672	0.84486	0.66836	0.57615	-0.27861	-0.36193	stac
gocce								1	0.21700	0.75970	0.53323	0.49233	-0.07161	-0.10159	gocce
piega									1	0.39647	0.42000	0.45956	0.01711	-0.01030	piega
tot2										1	0.76672	0.69298	-0.23867	-0.34739	tot2
anot											1	0.82794	-0.41905	-0.43841	anot
norm												1	0.38019	0.43669	norm
mott													1	0.90714	mott
motPP														1	motPP

Nella figura 2 è rappresentato il grafico che riporta le medie stimate (ottenute dall'analisi della varianza) dell'effetto del numero di prelievo sulle concentrazioni, e nel grafico 3 le medie stimate dell'effetto del numero di prelievo sulle anomalie primarie e secondarie totali, e le anomalie totali. Si nota come la concentrazione aumenta all'aumentare del numero di salti. Si nota anche come col susseguirsi del numero di prelievi le anomalie totali in generale tendano a diminuire leggermente o in ogni caso a rimanere invariate (si ricorda che le correlazioni tra questi dati sono negative ma con valori molto bassi). Questo indica, come già commentato per la tabella 1, che la progressiva e continua maturazione sessuale degli animali porta ad un miglioramento della quantità e qualità seminale.

Figura 2: grafico delle medie stimate dell'effetto del numero di prelievo sulle concentrazioni

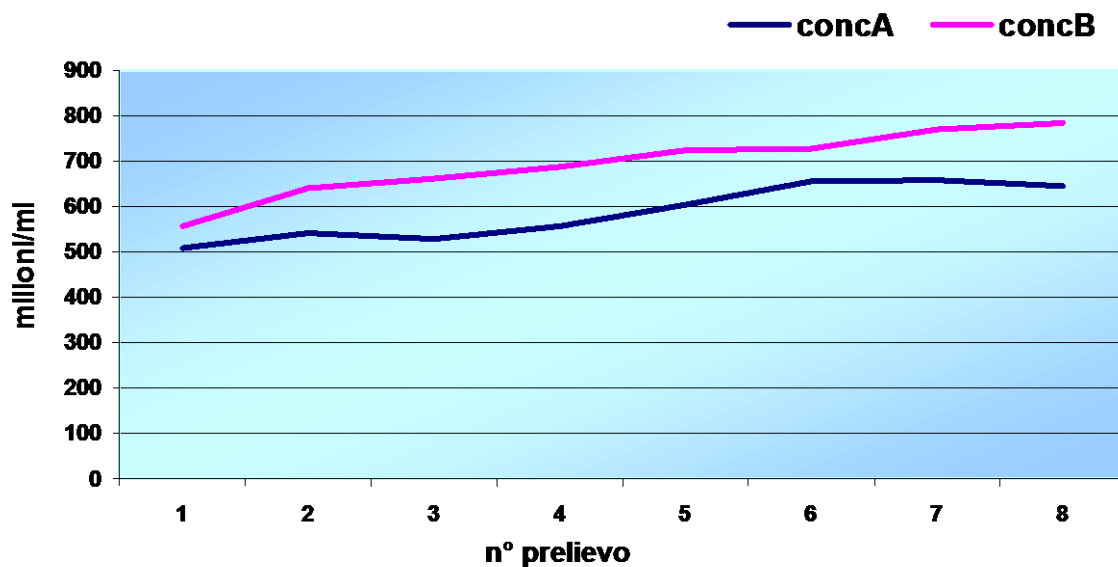
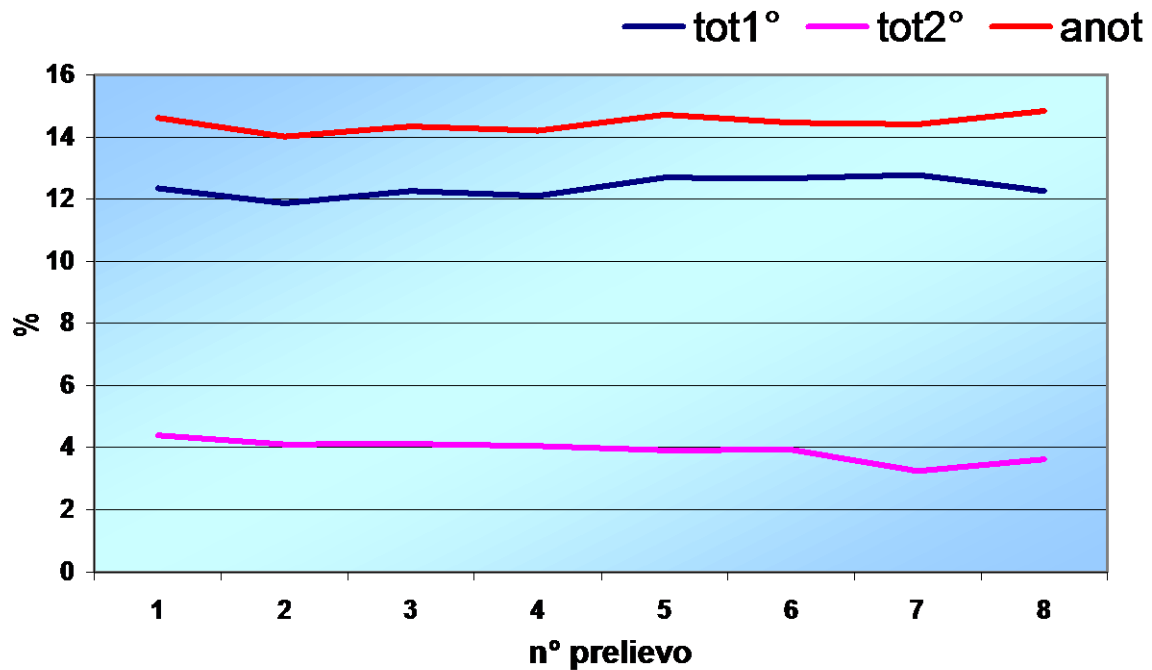


Figura 3: grafico delle le medie stimate dell'effetto del numero di prelievo sulle anomalie primarie e secondarie totali, e le anomalie totali



Nelle figura 4 è riportato il grafico che rappresenta le medie stimate dell'effetto dell'età sulle concentrazioni, mentre nella figura 5 il grafico con le medie stimate dell'effetto dell'età sulle anomalie primarie e secondarie totali e le anomalie totali. In entrambe le figure non si notano risultati di particolare interesse, questo a conferma di quanto detto precedentemente e cioè che non vi sono legami tra produzione e qualità dello sperma con l'età in quanto i soggetti compresi in questa fascia d'età evidentemente non presentano differenze sostanziali. I dati più significativi si riscontrano nei dati relativi al 14° e 15° mese di età. Si osserva una variazione significativa nella concentrazione e un numero di anomalie maggiori. Normalmente i torrelli terminano la loro sessione di salti intorno ai 13 mesi. I soggetti che prolungano questo periodo sono animali che presentano dei problemi: scarsa libido, alta percentuale di anomalie, scarsa produzione di seme. Ecco perché i risultati riferiti a questi mesi sono così differenti.

Figura 4: grafico delle medie stimate dell'effetto dell'età sulle concentrazioni

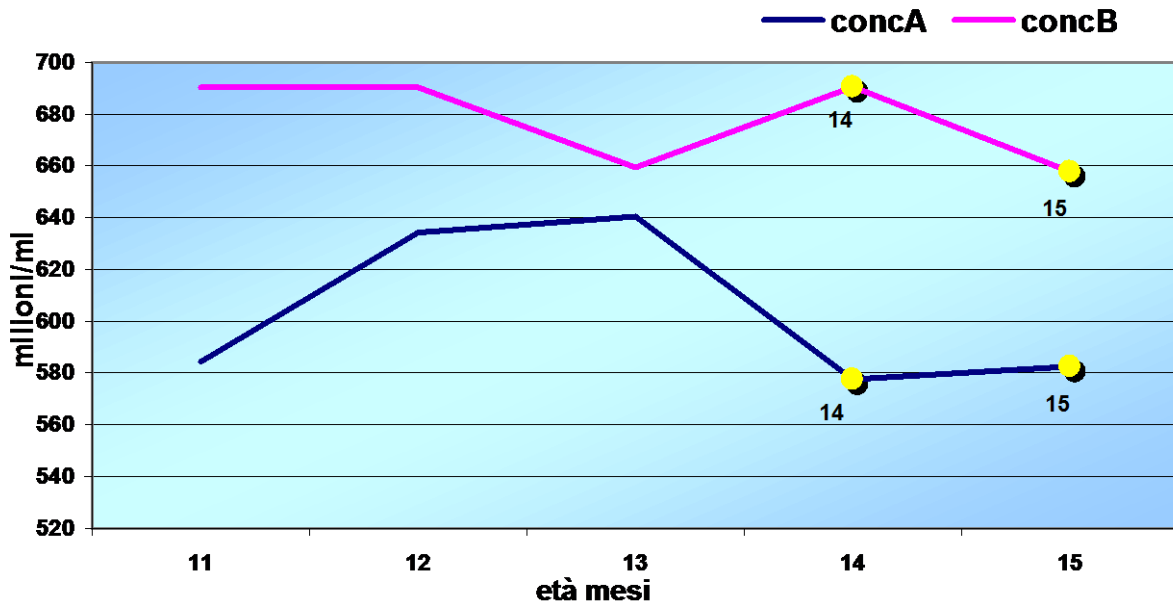
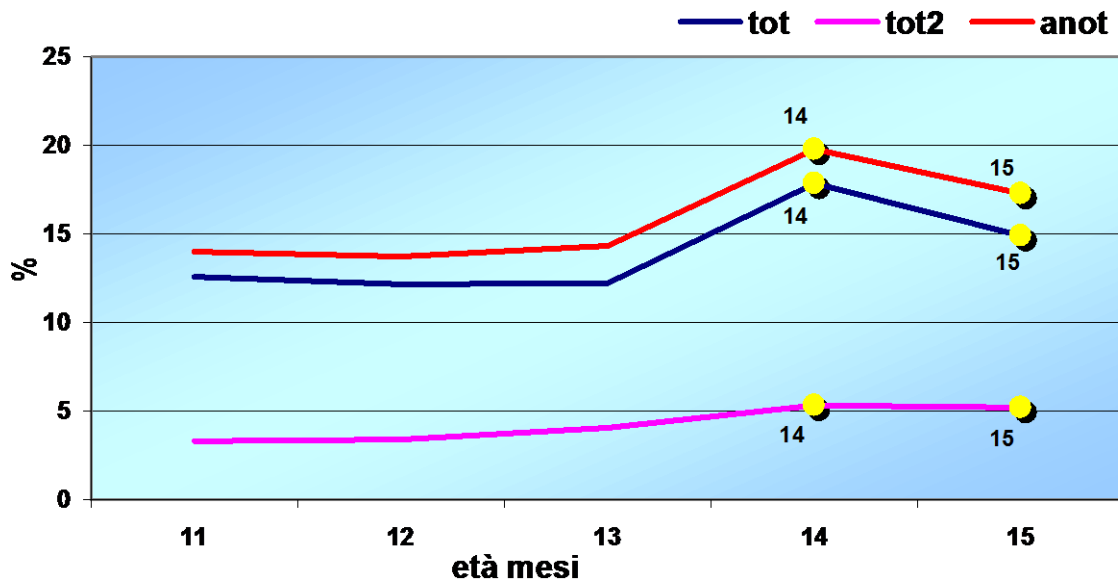


Figura 5: grafico delle medie stimate dell'effetto dell'età sulle anomalie primarie e secondarie totali e le anomalie totali



Per concludere si deve evidenziare che nelle analisi non si è mai tenuto conto del volume dell'eiaculato in quanto è un dato che risulta essere troppo influenzato dalla manualità dell'operatore.

10) CONCLUSIONI

Questo tirocinio è stato molto utile alla mia formazione professionale in quanto ho avuto la possibilità di partecipare direttamente ed in prima persona ad attività delle quali avevo una conoscenza solo teorica. Ho avuto così la possibilità di toccare con mano quello che prima conoscevo solo sulla carta, e in più di un'occasione mi è stata data l'opportunità di agire in modo libero ed indipendente potendo così interagire in modo sereno con gli operatori che avevo intorno. Posso dire che tutte le fasi delle attività che ho svolto, così come sono organizzate, secondo me, risultano essere molto efficienti, ben gestite e ben pensate. Con questa esperienza pratica ho potuto apprendere nozioni che mai avrei ricavato in altro modo (esempio come comportarsi in presenza di animali parecchio irrequieti, come avviene la gestione in stalla di questi soggetti, come avvengono le analisi e i prelievi). Dal punto di vista professionale e personale è stata un'esperienza molto costruttiva

Per quanto riguarda le analisi sviluppate si può affermare che effetti climatici, quali temperatura e in parte l'umidità, influenzano la produzione e la qualità dello sperma. Il numero di prelievo è utile per aiutare a capire come procede l'accrescimento e la maturazione sessuale dell'animale, ed indicare se questo sta avvenendo nel modo più corretto e migliore. L'età non dà invece informazioni, come già detto in precedenza, forse perché in questo caso i soggetti in questione hanno solo pochi mesi di differenza e quindi non risultano sostanziali diversità.

BIBLIOGRAFIA

- Aguggini, G., et al. 2000. Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia. 769-770, 772-773, 775-777.
- Alcantara, A.A., Saliendra, I. J. S. 2001. The relationship between boar semen quality and mean average monthly environmental temperature. *Philippine Journal of Veterinary Medicine*. 38: 2, 98-104. 14 ref.
- Brito, L.F.C., Silva, A.E.D.F., Barbosa R.T., Kastelic, J.P. 2004. Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. *Theriogenology*. 61, 512, 518-520.
- Brito, L.F.C., Silva, A.E.D.F., Rodrigues, L.H., Vieira, F.V Deragon, L.A.G., .., Kastelic, J.P. 2002. Effects of environmental factors, age and genotype on sperm production and semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* A.I. bulls in Brazil. *Anim. Reprod. Sci. Therogenology*. 70, 182.
- Chemineau, P., 1994. Medio ambiente y reproduction animal. *Rev Mund. Zootech*. 77, 2-14.
- Fonti ANARB 2003. sito internet. <http://www.anarb.it>
- Fonti ANARB 2003. PM Istruzione I-PPM.11/1. Manuale operativo area CG
- Hafez, E. S. E., 1984. *Reproduction in farm animals*, Lea & Febiger, Philadelphia, 5^a ed. 1987. La traduzione in italiano della 4^a ed. è stata pubblicata con il titolo: *Biologia e tecnologia della riproduzione animale di interesse zootecnico* Grasso, Bologna, 1984. 181, 468-469, 507.
- Johnston, J.E., Naelapaa, H., Freye, J.B., 1963. Physiological responses of Holstein, Brown Swiss and Red Sindhi crossbreed bulls exposed to high temperatures and humidity. *J. Anim. Sci.* 22, 432-436.
- Kunavongkrit, A., Prateep, P., 1995. Influence of ambient temperature on reproductive efficiency in pigs: (1) boar semen quality. *Pig Journal*. 35: 47-47. 15 ref.
- Pagnacco, G., 1997. *Genetica applicata alle produzioni animali*. Nuova edizione aggiornata. 124, 125.
- Pozzati, A., 2002. Tare genetiche. *La razza Bruna* n° 6 (nov. / dic. 2002). 33.

- Skinner, J.D., Louw, G.N., 1966. Heat stress and spermatogenesis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. J. Appl. Phys. 21, 1784-1790.
- Soffi, F., 2000. Virus BVD-MD una patologia complessa ed insidiosa. La razza Bruna n°2 (mar. / apr. 2000). 43-44.
- Wolfenson, D., Roth, Z., Meidian, R., 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. Anim. Reprod. Sci. 60/61, 535-547.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio tutti coloro che mi hanno aiutato, sostenuto, supportato ma soprattutto sopportato sia durante il periodo di tirocinio sia durante la stesura dell'elaborato.

Un ringraziamento particolare va all'Associazione Nazionale Allevatori Razza Bruna che mi ha dato la possibilità di svolgere il tirocinio presso il Centro Genetico. In modo particolare ringrazio Claudia Recchia che mi ha seguito lungo tutto il periodo di stage, e gli operatori del Centro, Luigi Mazzi, Carlo Adami, e Soaffi con i quali ho avuto l'onore e il piacere di lavorare. Inoltre un grazie a tutti i collaboratori degli uffici dell'ANARB.

Ringrazio Attilio Rossoni che mi ha dato una mano nell'elaborazione dei dati e tutti coloro che mi hanno seguito durante la stesura del mio elaborato. Grazie a tutti e.... a buon rendere.