

# Una tecnica cominciata nel 1780 con Lazzaro Spallanzani

## L'inseminazione strumentale nel cane

Guido Perosino

**Gli interventi sono ancora limitati proprio per la mancanza di leggi adeguate. Come avviene la conservazione del seme.**

L'inseminazione strumentale (I.S.), fino a pochi anni or sono detta fecondazione artificiale (F.A.), è pratica zootecnica antica. In Italia la inseminazione strumentale del cane è ancora praticamente inutilizzata.

Fino ad ora, infatti, la mancanza di una precisa normativa a riguardo, unita ad una scarsa considerazione delle possibilità offerte dalla moderna zootecnia, ha impedito il progredire di un più attuale approccio all'allevamento del cane, a differenza di quanto avvenuto in altre specie dove il contributo dell'inseminazione strumentale è stato basilare per il raggiungimento dei più indicativi traguardi del miglioramento genetico. Negli anni in cui la clonazione non fa più notizia e dove la pratica del trasferimento embrionale, come quella della fecondazione in vitro, è quasi routinaria, la modernizzazione delle tecniche di fecondazione nel cane e il loro uso a fini cinotecnici, almeno in gran parte dell'Europa continentale, è rimasto al palo.

Le nuove norme d'applicazione del disciplinare del Libro Genealogico citano esplicitamente l'inseminazione strumentale e la inquadrano nelle pratiche che dovranno essere dettagliatamente regolate, anche per assimilazione con quanto già avvenuto per le altre specie d'interesse zootecnico, in particolare con la Legge n.30 sulla riproduzione animale.

E' curioso notare come, paradossalmente, proprio nel nostro paese tale pratica non abbia trovato valida affermazione. Fu infatti l'italiano Lazzaro Spallanzani, nel lontano 1780, ad occuparsi per primo d'inseminazione artificiale, utilizzando appunto il cane.

Si dovrà tuttavia attendere la metà del 1900 per vedere un notevole sviluppo dell'applicazione delle biotecnologie della riproduzione ai cosiddetti animali da reddito; solamente negli anni settanta si è dato un certo incremento alla ricerca ed all'applicazione di tali tecnologie nel cane.

Risale al 1956 la nascita della prima cucciolata ottenuta in America da seme refrigerato, mentre nel 1969, ancora negli Stati Uniti si è registrata la prima nascita di cuccioli da seme congelato.

La lentezza con cui tali tecnologie si sono sviluppate è comunque in parte dovuta alle difficoltà nel mettere a punto le giuste tecniche di crioconservazione, così come quelle vere e proprie d'inseminazione.

La tecnica ideale di conservazione dello sperma animale, una volta prelevato, è quella del freddo: dalla semplice refrigerazione fino al vero e proprio congelamento. Proprio il diverso comportamento del materiale seminale alle tecniche di crioconservazione e la particolare "delicatezza" del seme canino hanno in parte determinato il ritardo nel più diffuso utilizzo dell'inseminazione artificiale.

Nel caso degli animali da reddito la tecnica utilizzata in modo esclusivo è quella del congelamento; nel cane, invece, vi sono tre modi principali, diversi a seconda se il seme sia utilizzato "fresco", cioè immediatamente dopo il prelievo oppure conservato attraverso l'abbassamento più o meno intenso della sua temperatura, sia esso refrigerato o congelato.

Il primo modo è molto più semplice ed è usato, comunemente con successo, quando la monta è resa difficoltosa da problemi ascrivibili sia al maschio sia alla femmina. In ogni caso la situazione andrebbe valutata attentamente dal punto di vista zootecnico poiché l'inseminazione strumentale con seme fresco potrebbe rappresentare non solo un facile modo per superare ostacoli alla riproduzione ma anche un'indubbia via per "propagare" nella progenie problemi di natura organica o comportamentale che possono avere una più o meno importante componente genetica.

Le difficoltà o l'impossibilità alla monta regolare possono essere dovute ad una patologia dell'organo genitale maschile, quale la fimosi, la micropenia, l'iperplasia prostatica.

Nella femmina a eventuali lesioni vulvari e/o vaginali, infiammatorie o tumorali, stenosi, ecc.

Tra le problematiche che fanno a capo a cause organiche vi sono anche quelle dovute a problemi ortopedici, soprattutto legati alla colonna vertebrale, tali da rendere difficoltoso il "salto".

Ostacoli anche di mera origine morfologica possono opporsi ad una monta naturale, specie in razze dove sono ricercati tratti somatici tanto particolari dal rendere la forma del cane stesso poco adatta al salto, oppure, come in certe razze miniaturizzate, si può incontrare un netto dimorfismo dove la femmina è più grande del maschio: in questi casi gli allevatori sono erroneamente convinti che una femmina grande possa avere meno problemi di parto e cucciolate più numerose, mentre il maschio particolarmente piccolo, dominerebbe nella trasmissione di questa sua ricercata caratteristica, il forte nanismo, appunto. In razze giganti può avvenire il contrario ed il maschio può opprimere la femmina con il proprio peso rendendole difficile lo sforzo per sostenerlo.

Altre motivazioni sono legate alla sfera comportamentale. Vi sono maschi che accusano una più o meno importante mancanza di libido; a volte l'assenza totale. In altri casi i maschi sono inibiti da uno "stile di vita" che li ha sempre tenuti lontani dai suoi simili, senza alcun contatto o scambio di natura sociale.

Nelle femmine alcuni aspetti legati ad un'anomala dominanza possono essere decisivi nel rifiuto dell'accoppiamento anche se, frequentemente, l'eventuale aggressività manifestata verso il maschio coincide con la scelta sbagliata del giusto momento per l'accoppiamento, in altre parole del calcolo del tempo d'ovulazione quando fatto in modo empirico.

E' sempre importante tenere conto dei possibili traumatismi che possono nascere da una monta forzata o intempestiva, sia per la femmina sia per il maschio. Le forzature debbono essere sempre evitate.

La profilassi e gli aspetti sanitari connessi con la copula sono la più plausibile giustificazione per un uso della inseminazione strumentale con seme fresco. L'evitare ogni contatto tra le mucose degli organi genitali in presenza di patologie veneree o infezioni appare un mezzo di prevenzione importante.

I vantaggi zootecnici dell'inseminazione strumentale si realizzano soprattutto quando lo sperma viene sottoposto alla refrigerazione per essere conservato ed utilizzato in modo differito nel tempo o all'interno di un piano di selezione che prevede l'uso di riproduttori geograficamente molto lontani, senza la possibilità di un incontro fisico, oppure dove i costi del trasporto dei riproduttori è molto alto in relazione alla loro distanza o per facilitare un programma di accoppiamenti orientati volti al miglioramento di uno o più tratti morfo-funzionali, oppure conservare il seme di un soggetto di particolare pregio dopo la sua morte, e via dicendo.

Lo sperma canino può essere vantaggiosamente refrigerato per essere conservato per brevi periodi di tempo (qualche giorno) ad una temperatura tra i +4°C e i +6°C.

Per ottenere un consono risultato il seme viene diluito in un mezzo liquido che contiene sia elementi nutritivi che conservanti ed anche dei crioprotettori che rendono meno "traumatica", per le cellule spermatiche, la discesa repentina dalla temperatura ambiente a quella prestabilita. Il seme così conservato e preparato viene trasportato con facilità e mantenuto alla temperatura ideale anche attraverso l'uso di semplici contenitori termocoibenti.

Il passo successivo alla refrigerazione, ovvero il metodo più "radicale" di crioconservazione (in teoria permette un mantenimento del seme per tempi indefiniti) è il congelamento.

Anche in questo caso il seme viene diluito in speciali liquidi di coltura che frequentemente contengono anche degli "attivatori" utili dopo lo scongelamento.

Il principale elemento chimico del diluente è dato dal glicerolo che evita la formazione di cristalli di ghiaccio all'interno delle cellule spermatiche.

Il seme viene raffreddato in tempi successivi secondo una curva di congelamento e portato dalla temperatura ambiente ai +4°C prima, poi fino ai -70°C nei vapori di azoto, per arrivare, infine, ai -196°C nell'azoto liquido.

Sia il processo di congelamento che lo scongelamento finale, che precede l'uso dello sperma nel cane per l'inseminazione, risultano particolarmente delicati.

Il fatto, inoltre, che la quantità e la qualità di liquido spermatico nella specie canina sia sostanzialmente inferiore e diversa da quello di altre specie allevate fa sì che da un unico prelievo normalmente possano essere fecondate una o poche (2-3) femmine.

### **Le tecniche di inseminazione**

La determinazione del momento corretto per l'inseminazione è di massima importanza visto il breve periodo durante il quale le ovocellule risultano feconde.

I metodi tradizionali ed empirici (conta dei giorni dall'inizio delle perdite, accettazione del maschio, ecc.) possono andare bene solo per una parte dei casi; lo stesso "striscio" vaginale è solo parzialmente valido.

Il metodo che scientificamente risponde alle esigenze di individuazione della effettiva fecondità degli ovociti (ovulazione) si può solamente determinare attraverso il dosaggio progressivo e costante del progesterone nel sangue.

Il seme fresco ha un potere fecondante molto maggiore rispetto al seme refrigerato e congelato; la motilità e vitalità dello sperma fresco giunto nelle vie vaginali si protrae infatti fino ad un numero elevato di ore (qualche autore descrive motilità fino a 5 giorni dopo l'inseminazione).

Se l'inseminazione è effettuata con seme refrigerato il potere fecondante si abbassa notevolmente nel suo valore temporale, ma anche la motilità degli spermatozoi si abbassa, tanto da richiedere un opportuno controllo al microscopio al fine di realizzare una comparazione con lo stesso seme appena prelevato.

Tale situazione "peggiora" ulteriormente nel seme congelato dove il potere fecondante si riduce fino a sole 12 ore e la motilità può scendere al di sotto del 50%, nel qual caso il rischio di "non fecondazione" è molto elevato.

In particolare va ricordato che un seme di buona qualità ha una motilità iniziale di almeno il 70%, che resta quanto più possibile al di sotto del 20% di spermatozoi anomali (code spezzate, teste doppie, ecc.) e che assicuri un apporto totale per inseminazione di circa 150/200 milioni di spermatozoi.

L'inseminazione può essere di due tipi: intra-vaginale ed intra-uterina.

La prima è sostanzialmente quella che avviene in natura, quando il pene penetra nella vagina gonfiandosi e creando un tappo che impedisce il reflusso dello sperma.

L'erezione determina inoltre una stimolazione delle pareti vaginali e una conseguente

contrazione che favorisce il trasporto in utero del liquido seminale.

All'atto della fecondazione artificiale si usano spesso delle sonde adattate all'anatomia vaginale della cagna. Una delle più diffuse è la cosiddetta "Osiris" che, attraverso un palloncino gonfiabile simula "il nodo" determinato nel pene dall'erezione, per evitare, appunto un reflusso.

Le possibilità di successo dell'uso di seme fresco con questo tipo di fecondazione sono molto elevate e superano l'80%, senza che vi sia una riduzione, statisticamente apprezzabile, del numero di cuccioli nati.

La fecondazione intra-uterina è particolarmente adatta per l'uso con con sperma congelato dato l'abbassamento del potere fecondante dello stesso, dovuto ai trattamenti successivi al prelievo; questa fecondazione infatti consente il deposito diretto dello sperma in utero evitando la naturale moria di spermatozoi nel corso del transito del collo dell'utero.

Questa tecnica si è particolarmente consolidata e perfezionata nei paesi Scandinavi, in conseguenza del suo utilizzo nell'ambito dei progetti di sviluppo dell'allevamento della volpe da pelliccia; si utilizzano sonde metalliche con estremità rotonda, poste su di uno speculum che funge anche da guida ed una siringa (vedi fotografia).

Si tratta di una modalità piuttosto difficile da praticare e richiede grandissima esperienza poiché si pratica attraverso la palpazione addominale della femmina da fecondare, così dal seguire e orientare il passaggio del catetere attraverso le vie vaginali ed uterine.

La fecondazione intra-uterina può essere anche svolta chirurgicamente (per laparotomia o in laparoscopia) ma richiede l'anestesia generale, non gradita dalla maggioranza degli allevatori.

In conclusione l'uso della fecondazione intra-uterina piuttosto che quella intravaginale è indifferente nel caso di seme fresco o refrigerato mentre per il seme congelato risulta più performante l'uso di quella intra-uterina.

Dal punto di vista normativo non esiste in Italia una legislazione specifica sulla fecondazione del cane. Esiste una precisa legislazione in merito all'uso della fecondazione strumentale negli animali da reddito che potrà essere un buon punto di riferimento anche in cinotecnica.

Attualmente il disciplinare del libro genealogico delle razze canine pure cita la fecondazione strumentale senza dare un contenuto normativo preciso.

Sarà compito della neo-insediata Commissione Tecnica Centrale farlo con la massima rapidità sia per la notevole importanza di questa tecnica all'interno di un corretto piano di miglioramento genetico delle razze sia per colmare il notevole gap tecnico che ci divide da altri paesi in Europa e in Nord America.