

*Istituto Sperimentale Italiano Lazzaro Spallanzani*

**IL CONTROLLO UFFICIALE DEL SEME**

**- ANNO 1998 -**

*Ministero per le Politiche Agricole*

**D.M. 27 dicembre 1994**

## INDICE

	pag.
CONTROLLI UFFICIALI DEL SEME	5
MODALITA' DI CAMPIONAMENTO DEL SEME	5
VERIFICA CORRETTA AUTOCERTIFICAZIONE	6
VERIFICA CORRETTA IDENTIFICAZIONE	11
RISULTATI:	17
CAMPIONAMENTI	19
VERIFICA CORRETTA AUTOCERTIFICAZIONE	19
VERIFICA CORRETTA IDENTIFICAZIONE	20
TABELLE:	21
PRODUZIONE SEMINALE ED IMPORTAZIONE	25
CAMPIONAMENTI EFFETTUATI E VERIFICA CORRETTA AUTOCERTIFICAZIONE	33
STATISTICHE ANALISI SEMINALI	41
ESTRAZIONI DNA EFFETTUATE E VERIFICA CORRETTA IDENTIFICAZIONE	59

## CONTROLLI UFFICIALI DEL SEME

I controlli di qualità del materiale seminale, introdotti dal DM 172/94 (regolamento della Legge n. 30 del 15 gennaio 1991) sono stati operativamente regolamentati dal DM del 27.12.94 e l'attività di controllo è stata demandata all'Istituto Sperimentale Italiano Lazzaro Spallanzani (di seguito indicato come Istituto).

Il controllo viene eseguito sulle partite di materiale seminale congelato distribuito in Italia (di produzione nazionale o di importazione) utilizzando un campione riguardante almeno il 10% di tali partite.

## MODALITÀ DI CAMPIONAMENTO DEL SEME

È stata ricercata una modalità di campionamento che consentisse di ottenere i risultati previsti dalla normativa in essere e nello stesso tempo non inficiasse le esigenze operative dei Centri di produzione seme (di seguito indicati come Centri). A tal fine è stato messo a punto, in collaborazione con i Centri, il seguente protocollo.

*Il lunedì di ogni settimana i Centri inviano all'Istituto il listato contenente le partite di seme congelato **prodotte o importate** la settimana precedente. Il listato deve contenere il nome commerciale del riproduttore, la matricola del riproduttore, il numero identificativo della partita ed il numero di paillettes prodotte o importate (per partita).*

*Entro il venerdì della settimana d'invio del listato i Centri ricevono l'eventuale comunicazione, in merito alla data di campionamento e alle partite campionate, in caso contrario le partite indicate nel listato non vengono campionate.*

*Al momento del campionamento, eseguito presso i Centri, devono essere disponibili le autocertificazioni. I risultati delle valutazioni analitiche vengono comunicati ai Centri nel più breve tempo possibile (generalmente in cinque giorni lavorativi). Se al momento del campionamento non sono disponibili le autocertificazioni, queste possono essere inviate all'Istituto successivamente, ma la data di riferimento per l'invio dei risultati analitici parte dalla data di ricevimento delle autocertificazioni da parte dell'Istituto.*

L'autocertificazione deve contenere i valori relativi alle seguenti variabili: concentrazione totale (CT) (milioni/paillette), motilità progressiva (MP) (%) e numero di spermatozoi progressivamente mobili (NSPM) (milioni/paillette). Per quest'ultima variabile il Centro può fornire l'intervallo di confidenza al 99% o richiedere che sia calcolato dall'Istituto in base alle misure di variabilità intra-partita eseguite nell'ambito del progetto finalizzato MiRAAF-RAIZ.

Nel seguente schema viene riportato il calendario di lavoro presso un Centro in cui l'Istituto prevede di eseguire un campionamento al mese (eseguito su di un singolo listato settimanale).

SETTIMANA 1	SETTIMANA 2	SETTIMANA 3	SETTIMANA 4	SETTIMANA 5	SETTIMANA 6
<b>Produzione</b>	<b>Invio listati</b> <b>Avviso di campionamento</b> <b>Campionamento</b> <b>Produzione</b>	<b>Trasmissione risultati</b>			
		<b>Invio listati</b> nessun avviso* <b>Produzione</b>	<b>Invio listati</b> nessun avviso* <b>Produzione</b>	<b>Invio listati</b> nessun avviso* <b>Produzione</b>	
					<b>Invio listati</b> <b>Avviso di campionamento</b> <b>Campionamento</b>

\* Nessun campionamento sulla produzione della settimana precedente.

## VERIFICA CORRETTA AUTOCERTIFICAZIONE

Presso i laboratori dell'Istituto viene effettuata l'analisi qualitativa del materiale seminale dopo scongelamento per quanto concerne la concentrazione e la motilità progressiva al fine di determinare il numero di spermatozoi progressivamente mobili (NSPM) che rappresenta il parametro di riferimento qualitativo.

I NSPM vengono confrontati con le autocertificazioni prodotte dai Centri: in caso di mancata concordanza tra NSPM calcolato dall'Istituto e il valore minimo per questa partita dichiarato dal Centro, viene effettuata una ulteriore analisi su un secondo campione della stessa partita. In caso di ulteriore mancata concordanza la partita viene definita A.E. (Autocertificazione Errata) ed il Centro deve modificare l'autocertificazione. La correzione dell'autocertificazione errata è l'unico adempimento richiesto al Centro in fase di commercializzazione del seme.

## MODALITA' DI ANALISI DEL SEME

La valutazione del materiale seminale congelato prevede le seguenti fasi:

1. Scongelamento del seme;
2. Determinazione della concentrazione;
3. Determinazione della motilità;
4. Analisi dei dati.



**Conteggio:** viene eseguito il conteggio medio di 5 quadrati piccoli su 4 quadrati grandi, nei due reticoli della camera di Burker, per un totale di 8 quadrati grandi:

$$[(A1...A5 + B1...B5 + C1...C5 + D1...D5) + (A1...A5 + B1...B5 + C1...C5 + D1...D5)] / 8$$

Il conteggio viene effettuato sui due reticoli di 2 camere, con due diverse aliquote di materiale seminale. La distribuzione degli spermatozoi all'interno dei reticoli della camera di Burker dovrebbe seguire una distribuzione di Poisson. Dal momento che non risulta possibile accertare il fatto durante le valutazioni routinarie, vengono scartati, nell'ambito degli otto conteggi eseguiti nei due reticoli di ogni camera, il conteggio più alto e quello più basso. In tal modo la media ottenuta si approssima bene alla mediana della distribuzione delle classi di frequenza delle conte nei quadrati grandi, ottimizzando il risultato.

**Calcolo:** dato che la superficie di un quadrato piccolo è 0,04 mm<sup>2</sup>, l'altezza di un quadrato piccolo è 0.10 mm, il volume di un quadrato piccolo è 0.004 mm<sup>3</sup> e il volume di 5 quadrati piccoli è 0.020 mm<sup>3</sup>, il calcolo della concentrazione viene eseguito utilizzando la seguente formula:

$$C = N * (1 / V5) * FD * FC$$

dove:

C = concentrazione spermatica / ml;

N = numero di spermatozoi contati in 5 quadrati piccoli;

1 = riferimento ad 1 ml;

V5 = volume di 5 quadrati piccoli (1 / V5 consente il calcolo del numero di

spermatozoi in 1 mm<sup>3</sup>);

FD = fattore di diluizione (1:20 = 20);

FC = fattore di conversione (mm<sup>3</sup> → ml = 1000).

Per il seme congelato, si utilizza un tasso di diluizione di 1:20 (50 µl di seme e 950 µl di NaCl sol. 7%) e pertanto la formula diventa:

$$C = N * (1 / 0.020) * 20 * 1000$$

### Coulter Counter

**Preparazione del campione:** il materiale seminale viene diluito 1+5 con Sodio lauril-solfato sol. 10% (p/v), poi diluito 1+1 con 0.5N di NaOH. Ad una incubazione di 15' a temperatura ambiente segue una diluizione 1+200

in 0.1M di Sodio citrato contenente 0.025% di Sodio azide e 0.1% di Triton X100.

**Strumentazione e settaggio:** vengono utilizzati, per la specie bovina, due diversi modelli di contatori elettronici di particelle (Coulter-Counter mod. ZM e mod. Z1) entrambi muniti di un foro capillare da 100  $\mu\text{m}$ . La calibrazione dei due strumenti e':

*mod.ZM* - rilevazione di particelle con un diametro e volume della sfera equivalente di 2.340  $\mu\text{m}$  e di 6.715  $\mu\text{m}^3$  (soglia inferiore= 3.8%, soglia superiore= 99.9%).

*mod.Z1* - rilevazione di particelle con un diametro e volume della sfera equivalente di 2.485  $\mu\text{m}$  e di 8.035  $\mu\text{m}^3$  (soglia inferiore= 12.6 %, soglia superiore= 52.6 %). Essendo stata verificata variabilita' nel corretto settaggio fra differenti strumenti, tale settaggio e' da considerarsi corretto solo per lo strumento in uso presso il laboratorio di andrologia dell'Istituto Spallanzani.

**Riferimenti bibliografici:** Galli et al. (1997) Atti XXIX Congr. Naz. SIB; Parks et al. (1985) J. Dairy Sci., 68:2329.

### 3. Determinazione della motilita'

La valutazione della motilita' consente di misurare le variabili di tipo cinetico, delle quali quella d'interesse per il controllo ufficiale del seme e' la motilita' progressiva. La misura viene eseguita tramite videomicrografia computerizzata.

#### Videomicrografia computerizzata

**Preparazione del campione e videoregistrazione:** 2 aliquote da 10  $\mu\text{l}$  ciascuna vengono poste su 2 diverse camere di Makler preriscaldate a 37° C, dalle quali vengono videoregistrati 8 campi microscopici (15" ciascuno), tramite microscopio a contrasto di fase dotato di obiettivo 20x a contrasto di fase negativo e di tavolinetto termostato tarato a 37° C.

**Strumentazione:** l'analisi viene eseguita tramite due analizzatori automatici d'immagine: HTM-IVOS v.10.7 (Hamilton Thorne research) per le specie bovina e bufalina e SM-CMA v.4.3 (Stromberg-Mika, Medical equipment) per tutte le altre specie.

**Misure eseguite:** vengono misurate: la velocita' lineare (VSL), data dalla distanza fra la prima e l'ultima posizione assunta dallo spermatozoo (percorso rettilineo) diviso il tempo; la velocita' curvilinea (VCL), data dalla somma dei segmenti sottesi fra le varie posizioni della traiettoria dello

spermatozoo (percorso curvilineo) diviso il tempo; la *average-path-velocity* (VAP), data dal rapporto fra la lunghezza della traiettoria dello spermatozoo, calcolata tramite algoritmo utilizzando la media mobile, ed il tempo. Gli spermatozoi sono considerati mobili per VAP superiore ad un valore di riferimento impostato nel settaggio e diverso a seconda della specie (la percentuale di tali spermatozoi rappresenta la motilità totale). La velocità media di spostamento (VM) è la media delle VAP di tutti gli spermatozoi classificati come mobili. La motilità progressiva (MP) viene valutata in modo differente dai due strumenti:

- *HTM-IVOS* - esclude dal numero di spermatozoi mobili quelli che posseggono un rapporto VSL/VAP inferiore a 80%: THRESHOLD STRAIGHTNESS (80%);
- *SM-CMA* - esclude dal numero di spermatozoi mobili quelli che presentano movimento circolare che vengono determinati calcolando il numero di punti d'intersezione fra il percorso rettilineo (calcolato dal punto d'inizio a quello di fine della traiettoria) ed il percorso calcolato tramite algoritmo di media mobile. Se il numero di intersezioni è uguale a due, lo spermatozoo sarà classificato con movimento circolare se il raggio della traiettoria è inferiore al raggio di riferimento definito precedentemente nel settaggio dello strumento. Se invece il numero di intersezioni è maggiore di due o se il raggio della traiettoria è superiore al raggio di riferimento, lo spermatozoo sarà classificato come progressivamente mobile.

Per entrambi gli analizzatori l'analisi viene effettuata su un minimo di quattro campi microscopici analizzando almeno 200 spermatozoi.

**Settaggio:** è differente per le diverse specie analizzate:

*specie bovina e bufalina:* viene utilizzato l'HTM-IVOS che ha un sistema di discriminazione degli spermatozoi basato sulla determinazione degli oggetti in movimento, pertanto viene definito il valore minimo di taglia (MINIMUM CELL SIZE= 25 pix) e di luminosità (MINIMUM CONTRAST= 15) che un oggetto deve avere per essere riconosciuto. Per l'analisi e la discriminazione degli spermatozoi immobili vengono utilizzate le medie della dimensione e dell'intensità di luce degli oggetti in movimento. Al fine di una corretta discriminazione, risulta di fondamentale importanza la calibrazione dello strumento (MAGNIFICATION) tramite Camera di Makler. Se in un campo ci sono meno di 4 cellule mobili l'analizzatore utilizza i parametri NON-MOTILE HEAD SIZE (60 pix) e NON-MOTILE HEAD INTENSITY (50). Le cellule ferme di un determinato campione sono soggette ad ulteriore esclusione se la loro dimensione e la loro intensità non rientra nei range definiti con STATIC HEAD SIZE LIMITS (0.19-5.55) e con STATIC HEAD INTENSITY LIMITS (0.52-10). Con il range STATIC ELONGATION LIMITS (0-60 %) è possibile eliminare le particelle che hanno forma rotonda.



Lo spermatozoo viene considerato nell'analisi solo se e' seguito per un minimo di 10 tracce (SORT - DATA POINTS= 10-30). Il numero massimo di tracce e' 30 (FRAMES ACQUIRED). La classificazione degli spermatozoi si basa sulla velocità di spostamento degli stessi ed e' la seguente:

- statiche = ferme
- lente =  $VAP < 24.9 \mu\text{m}/\text{sec}$  o  $VSL < 20 \mu\text{m}/\text{sec}$  (LOW VAP CUT-OFF =  $24.9 \mu\text{m}/\text{sec}$  e LOW VSL CUT-OFF =  $20 \mu\text{m}/\text{sec}$ )
- medie =  $24.9 < VAP < 25 \mu\text{m}/\text{sec}$  (MEDIUM VAP CUT-OFF=  $25 \mu\text{m}/\text{sec}$ )
- rapide =  $VAP > 25 \mu\text{m}/\text{sec}$ .

Sono considerate mobili le cellule classificate come medie e rapide.

*specie equina:* viene utilizzato l'SM-CMA. La superficie per il riconoscimento di uno spermatozoo e' compresa tra 10 e 100 pixel (1 pixel=0.492  $\mu\text{m}$ , dopo calibrazione con Camera di Makler); il numero di immagini (FRAME) per singolo spermatozoo varia da un minimo di 14 ad un massimo di 32; la VAP perche' uno spermatozoo sia classificato mobile deve essere superiore a 15  $\mu\text{m}/\text{sec}$ ; il livello di grigio viene settato manualmente all'inizio di ogni analisi.

*specie ovina:* viene utilizzato l'SM-CMA. La superficie per il riconoscimento di uno spermatozoo e' compresa tra 15 e 60 pixel (1 pixel=0.492  $\mu\text{m}$ , dopo calibrazione con Camera di Makler); il numero di immagini (FRAME) per singolo spermatozoo varia da un minimo di 14 ad un massimo di 32; la VAP perche' uno spermatozoo sia classificato mobile deve essere superiore a 20  $\mu\text{m}/\text{sec}$ ; il livello di grigio viene settato manualmente all'inizio di ogni analisi.

**Riferimenti bibliografici:** Davis R.O. e Katz D.F. (1993) J. Andrology, 15 (5):385; Signori T., Balduzzi D., Bornaghi V., Galli A. (1997) Atti 9° Meet. Nazionale su "Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico".

#### 4. Analisi dei dati

I dati vengono caricati in apposito database ed analizzati utilizzando procedure automatiche.

#### VERIFICA CORRETTA IDENTIFICAZIONE

La verifica della corretta identificazione (VCI) viene eseguita mediante il confronto fra specifici marcatori genetici (microsatelliti) del DNA estratto dagli spermatozoi in esame rispetto al DNA di riferimento (prevalentemente estratto dai leucociti del sangue periferico) del riproduttore. Nel caso di mancata concordanza fra i frammenti di DNA della partita in esame l'analisi

viene eseguita su di un secondo campione della stessa partita. Se viene nuovamente a mancare la concordanza fra DNA di riferimento e quello del seme, la partita viene definita I.E. (Identificazione Errata) e dovrà essere distrutta dal Centro produttore.

I campioni biologici per l'estrazione del DNA di riferimento vengono inviati dai Centri all'entrata del riproduttore nei propri impianti. Il DNA estratto viene quindi stoccato in azoto liquido in apposito magazzino. Le VCI vengono eseguite amplificando insieme aliquote di DNA di riferimento e di DNA estratto dal lotto di seme campionato, quindi i risultati dell'amplificazione vengono analizzati "in parallelo", al fine di evitare fonti di variabilità laboratoristica. Se il risultato del confronto fra DNA di riferimento e DNA del seme di un riproduttore campionato per la prima volta risulta non corretto, prima di procedere alla seconda analisi su un ulteriore campione di seme dello stesso lotto (per accertare ufficialmente la I.E.) viene eseguita la verifica del DNA di riferimento, richiedendo al Centro un ulteriore campione biologico, corredato da un ciuffo di peli, del riproduttore.

## METODOLOGIA ANALITICA

La metodologia analitica prevede le seguenti fasi:

1. Estrazione del DNA dal sangue (DNA di riferimento) e/o dal seme;
2. Dosaggio del DNA;
3. Amplificazione del DNA;
4. Analisi dei frammenti;
5. Acquisizione ed analisi dei dati.

### **1. Estrazione del DNA**

Viene utilizzato il kit Genomic DNA extraction -Genomix- Talent s.r.l. (1).

#### **Seme**

Campioni da 350 µl di materiale seminale scongelato vengono posti in una provetta, miscelati con 800 µl di PBS e centrifugati per 5' a 10000 rpm. Dopo l'eliminazione del surnatante, il pellet viene risospeso in 150 µl di PBS e vengono successivamente aggiunti 600 µl di "soluzione di lisi" (1) e 20 µl di Ditioneritolo (DTT) 1M. Segue infine una incubazione per 10' a 68°C nel bagnetto termostato. Nel frattempo ad una provetta "gel barrier" centrifugata per 1' a 10000 rpm vengono aggiunti 600 µl di cloroformio e 50 µl di "soluzione acidificante" (1). Terminata l'incubazione dei campioni, il lisato viene trasferito nella "gel barrier" e si agita energicamente in modo da mescolare bene le due fasi. Dopo centrifugazione per 3' a 14000 rpm, la fase

acquosa viene trasferita in una provetta dove vengono aggiunti 900  $\mu\text{l}$  di “soluzione precipitante” (1). Quindi si agita fino ad ottenere un filamento, si elimina il surnatante dopo centrifugazione per 2' a 10000 rpm e si risospende il pellet in 500  $\mu\text{l}$  di “soluzione exchange” (1) e in 1 ml di etanolo assoluto freddo. Si mescola, si centrifuga per 2' a 10000 rpm e si elimina il surnatante. Successivamente il pellet viene lavato con 1 ml di etanolo 70% e ricentrifugato per 2' a 10000 rpm. Dopo eliminazione del surnatante e disidratazione, il pellet viene risospeso in un volume adeguato di una soluzione di TE (Tris-HCl 10mM ed EDTA 0.2mM) pH 8 ed incubato per almeno due ore in termostato a 55°C, prima della fase di dosaggio.

## **Sangue**

Aliquote da 600  $\mu\text{l}$  di sangue, contenuto in provette EDTA ( $K_3$ ), vengono poste in provette, incubate per 1 ora a 37°C, diluite con 1.2 ml di “soluzione di lavaggio per il sangue modificata” (1), agitate e centrifugate per 15' a 5300 rpm. Dopo eliminazione del surnatante, il pellet viene risospeso in 150  $\mu\text{l}$  di PBS, 150  $\mu\text{l}$  di soluzione di lavaggio e 600  $\mu\text{l}$  di “soluzione di lisi” (1). Si mescola e si incuba per 10' a 68°C nel bagnetto termostato. Per le successive fasi si procede come per il seme. Alla fine, il pellet viene risospeso in 250  $\mu\text{l}$  di TE pH 8 e incubato per almeno due ore in termostato a 55°C, prima della fase di dosaggio.

## **2. Dosaggio del DNA**

La determinazione della quantità di DNA viene eseguita utilizzando 7  $\mu\text{l}$  di DNA.

### Spettrofotometro

La determinazione viene eseguita utilizzando uno spettrofotometro (GeneQuant II- Pharmacia) alle seguenti lunghezze d'onda:

- 260 nm per la lettura del DNA ( $A_{260}$ );
- 280 nm e 320 nm per la lettura delle impurità ( $A_{280}$ ;  $A_{320}$ ).

Prima di procedere alla lettura dei campioni, si esegue il settaggio e la calibrazione dello strumento in modo tale che i valori di assorbanza alle diverse lunghezze d'onda siano 0.0000 AU (Absorbance Units).

## **Seme**

Il dosaggio viene effettuato con lo scopo di diluire i campioni alle concentrazioni comprese tra 20 ng/ $\mu\text{l}$  e 40 ng/ $\mu\text{l}$ , quantità consigliate per la successiva amplificazione (PCR).

### Misurazione del campione

I parametri utili per le opportune diluizioni del campione sono:

- concentrazione non inferiore a 10 ng/μl
- *ratio*, che indica il rapporto  $A_{260}/A_{280}$ , compresa fra 1.5 e 1.8.

I campioni con valori di concentrazione compresi fra 10 ng/μl e 40 ng/μl non vengono diluiti.

I campioni con valori di concentrazione superiori a 40 ng/μl devono essere diluiti ad una concentrazione finale di 25 ng/μl aggiungendo un volume di TE così calcolato:

$$VTE = (CDNA / 25) * VDNA - VDNA$$

dove:

VTE = volume in μl di TE da aggiungere;

CDNA = concentrazione misurata di DNA

VDNA = Volume di risospensione - volume di DNA usato per la lettura.

### **Sangue**

La concentrazione del DNA ottenuto da sangue viene determinata allo scopo di costituire per ciascun campione una quantità minima di DNA tale da permettere l'effettuazione del test di identità per almeno 10 anni, come previsto dal DM. 27.12.1994.

### Misurazione del campione

I parametri utili per le opportune diluizioni del campione sono:

- concentrazione non inferiore a 20 ng/μl
- *ratio*, che indica il rapporto  $A_{260}/A_{280}$ , compresa fra 1.5 e 1.8.

I campioni con valori di concentrazione compresi fra 20 ng/μl e 40 ng/μl non vengono diluiti mentre quelli con valori di concentrazione superiori a 40 ng/μl devono essere diluiti. Dei 250 μl di DNA ottenuti dall'estrazione, 100 μl vengono conservati indiluiti mentre 140 μl vengono diluiti ad una concentrazione finale di 25 ng/μl aggiungendo un volume di TE così calcolato:

$$VTE = (CDNA / 25) * 140 \mu l - 140 \mu l$$

dove:

VTE = volume in μl di TE da aggiungere;

CDNA = concentrazione misurata di DNA

### 3. Amplificazione del DNA

Viene utilizzato il kit Stock Marks for Bovine Paternity PCR Typing - Perkin Elmer Applied Biosystem (2).

L'amplificazione dei microsatelliti del DNA avviene tramite una reazione chiamata PCR (Polimerase chain reaction - reazione a catena della polimerasi), utilizzando come *primers* sequenze oligonucleotidiche specifiche. Per i bovini vengono utilizzati i seguenti *primers*:

TGLA 122: 5'AAT CAC ATG GCA AAT AAG TAC ATA C 3'

TGLA 126: 5'TTG GTC TCT ATT CTC TGA ATA TTC C 3'

TGLA 227: 5'ACA GAC AGA AAC TCA ATG AAA GCA 3'

Per il DNA ottenuto da seme vengono utilizzati oligonucleotidi fluorescinati in giallo (HEX) mentre per quello ottenuto da sangue oligonucleotidi fluorescinati in blu (6-carboxyfluoresceina: 6-FAM).

La reazione di amplificazione si svolge in un termociclatore Gene Amp PCR System 9700 Perkin Elmer seguendo il protocollo fornito dalla stessa ditta. In particolare, 20 ng di DNA estratto vengono amplificati in una miscela contenente:

- 10x PCR buffer (100 mM Tris-HCl pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>) (2)
- miscela di nucleotidi (dNTPs) 1.25 mM (2)
- DNA Polimerasi DNA dipendente (AmpliTaQ Gold - 5U/μl) (2)

### 4. Analisi dei frammenti

Dopo l'amplificazione, aliquote di ciascuna PCR dello stesso toro vengono miscelate e diluite. A 1μl di questa miscela, vengono aggiunti: standard interno (Genescan Tamra 350) (2), formamide e loading buffer. Lo standard interno viene aggiunto per permettere l'assegnazione automatica delle dimensioni dei microsatelliti e per normalizzare le eventuali differenze date dalla mobilità elettroforetica. Il mix così ottenuto viene caricato in un gel denaturante di poliacrilamide (40%) e la separazione elettroforetica viene condotta in un Sequenziatore automatico 373 DNA Sequencer Stretch (Perkin Elmer).

### 5. Acquisizione ed analisi dei dati

I dati vengono collezionati ed analizzati in automatico dal software di cui dispone il sequenziatore (Genescan e Genotyper) e la dimensione allelica viene espressa in paia di basi (bp). Successivamente vengono caricati automaticamente in apposito database ed analizzati.

La VCI è corretta quando la differenza allelica fra seme e sangue è inferiore a 2 bp; la VCI è errata quando la differenza allelica risulta uguale/superiore a 2 bp (sul primo e sul secondo campione di seme).

**Riferimenti bibliografici:** Galli A., Valente N., Bongioni G., Pozzi A., Aleandri R. (1997) Atti XXXII Simposio Internazionale di Zootecnia.

(1) Talent, Genomic DNA Extraction-Genomix Kit, Trieste.

(2) Perkin Elmer Corporation, StockMarks™ for Cattle Paternity Bovine PCR Typing Kit Protocol, Foster City - San Francisco (CA).

# **RISULTATI**

## **CAMPIONAMENTI**

Durante il 1998 sono stati considerati 22 Centri di produzione seme e 10 importatori funzionalmente collegati ai Centri di produzione seme, come riportato in tabella 1.

Il campionamento ha interessato 2216 partite su di un totale di 17955 prodotte per le specie bovina (tabelle 7 e 2), 18 partite su 151 prodotte per la specie equina (tabelle 8 e 3), 5 partite su 53 prodotte per la specie suina (tabelle 9 e 4), 188 partite su 1650 importate per la specie bovina (tabelle 10 e 5) e 17 partite su 185 importate per la specie equina (tabelle 11 e 6) con delle percentuali di campionamento pari rispettivamente al 12.3%, 11.9%, 9.4%, 11.4% e 9.2%.

I soggetti impiegati per la produzione di seme congelato sono stati 1588. Quelli interessati al campionamento sono stati 1078, di cui 933 (su 1239) per la specie bovina di produzione nazionale, 11 (su 20) per la specie equina di produzione nazionale, 5 (su 32) per la specie suina di produzione nazionale, 117 (su 246) per l'importazione della specie bovina e 12 (su 51) per l'importazione della specie equina.

I sopralluoghi eseguiti presso i Centri e gli importatori sono stati complessivamente 249 di cui 167 per la specie bovina (tabella 7), 7 per la specie equina (tabella 8), 3 per la specie suina (tabella 9), 65 per l'importazione della specie bovina (tabella 10) e 7 per l'importazione della specie equina (tabella 11).

## **VERIFICA CORRETTA AUTOCERTIFICAZIONE**

Su un totale di 2444 partite controllate, sono state evidenziate 45 partite (1.8%) definite ufficialmente A.E. di cui 13 su 2216 (0.6%) per la specie bovina (tabella 7), 3 su 18 (16.7%) per la specie equina (tabella 8), 27 su 188 (14.4%) per l'importazione della specie bovina (tabella 10) e 2 su 17 (11.8%) per l'importazione della specie equina (tabella 11).

Nelle tabelle 12-26 vengono riportate le statistiche descrittive relative ai risultati ottenuti dall'analisi del seme eseguita dall'Istituto ed ai valori di autocertificazione prodotti da ciascun Centro suddivisi per specie e per variabile analizzata.

Nella tabella 27 viene considerata la variabile  $\Delta$ NSPM calcolata come NSPM(Istituto)-NSPM(Centro). E' stata poi calcolata la differenza fra la media di  $\Delta$ NSPM per ogni Centro e la media generale e tale scarto e' stato espresso in Unità di Errore Standard (UES). I Centri con il valore dello scarto



nella fascia di sinistra misurano il NSPM in maniera significativamente maggiore (sovrastimano) a quanto fa l'Istituto, i Centri che ricadono nella fascia centrale misurano in maniera analoga a quanto fa l'Istituto, i Centri con i valori nella fascia di destra misurano il NSPM in maniera significativamente minore (sottostimano) a quanto fa l'Istituto.

## **VERIFICA CORRETTA IDENTIFICAZIONE**

L'attività di estrazione del DNA da utilizzare quale riferimento ufficiale ha permesso la realizzazione di un magazzino di stoccaggio riguardante, alla fine del 1998, 2172 tori interessati alla produzione di seme congelato a livello nazionale (tabella 28) e 196 tori relativi a seme congelato di importazione (tabella 30).

Sono stati eseguiti 2299 confronti fra DNA di riferimento ufficiale e DNA estratto dal seme campionato. In particolare 2187 hanno riguardato il seme congelato di produzione nazionale e 112 il seme congelato d'importazione. Sono state evidenziate 2 partite con Verifica Corretta Autocertificazione Errata per il seme congelato di produzione nazionale.

# TABELLE

**TABELLA N.:** 1  
**ANNO** : 1998  
**VARIABILE** : CENTRI DI PRODUZIONE E IMPORTATORI  
**SPECIE** : BOVINA, CAPRINA, EQUINA, OVINA E SUINA

CENTRO\IMPORTATORE	SPECIE	CODIFICA
ABS ITALIA - CREMONA collegata a COFA	BOVINA	ABS
ANABORAPI - CARRU' (CN)	BOVINA	ANABORAPI
ANABORAVA - GRESSAN (AO)	BOVINA	ANABORAVA
ALL. CENTAURO (FG) collegata a STUDIO VETERINARIO CRISTELLA	EQUINA	CENTAURO
ALL. LA SERENISSIMA - BEDIZZOLE (BS)	EQUINA	LA SERENISSIMA
ALL. LE FONTANETTE - VIGONE (TO)	EQUINA	LE FONTANETTE
ALPENSEME - TOSS (TN)	BOVINA	ALPENSEME
BEST SIRES - PESCHIERA BORROMEO (MI) collegata a INTERMIZOO	BOVINA	BEST SIRES
CENTRO REGIONALE DEL FRIULI - MORUZZO (UD)	BOVINA EQUINA	CT-UDINE
CENTRO TORI DI MACERATA - MACERATA	BOVINA	CT-MACERATA
CENTRO TORI CHIACCHIERINI - CIVITELLA D'ARNA (PG)	BOVINA	CT-PERUGIA
CFA ROCCA PRIORA DELL'APA - FALCONARA MAR. (AN)	SUINA	CT-ANCONA
CIZ - CENTRO TORI S. MINIATO - LA SERRA (PI)	BOVINA CAPRINA OVINA	CIZ-PI
CIZ - CENTRO TORI PARMA	BOVINA	CIZ-PR
COFA - TIDOLO DI SOSPIRO (CR)	BOVINA	COFA
COSAPAM - PESCHIERA BORROMEO (MI) collegato a INTERMIZOO	BOVINA	COSAPAM
CPFA CURTATONE - CURTATONE (MN)	BOVINA	CT-CURTATONE
ELPZOO - ZORLESCO DI CASALPUSTERLENGO (LO)	BOVINA	ELPZOO
EURO GENETIC - MAZZANO (BS) collegato a STUDIO VETERINARIO CRISTELLA	EQUINA	EURO GENETIC
GENETICA 2000 - BARCO DI BIBBIANO (RE)	BOVINA	GENETICA 2000
INTERMIZOO - S. DONA' DI PIAVE (VE)	BOVINA	INTERMIZOO
ITAL GENETICS - VARESE	BOVINA	ITALGENETICS
LA BASSETTA - CAVRIAGO (RE) collegato a STUDIO VETERINARIO DOTT. SOCCINI	EQUINA	LA BASSETTA
LA QUERCIA VERDE - ALSENO (PC)	EQUINA	QUERCIA VERDE
PONTE ALTO - LENTIGIONE DI BRESCELLO (RE) collegato a STUDIO VETERINARIO CRISTELLA	EQUINA	PONTE ALTO
QUALITY SEMEN - PODENZANO (PC) collegato a GENETICA 2000	BOVINA EQUINA	QUALITY SEMEN
SCUDERIA ORSI MANGELLI - SAN GIOVANNI IN PERSICETO (BO)	EQUINA	ORSI MANGELLI
SEMENITALY - DIEGARO DI CESENA (FO)	BOVINA	SEMENITALY-FO
SEMENITALY - SALICETA S. GIULIANO (MO)	BOVINA	SEMENITALY-MO
SEMEX ITALIA - CODOGNO (MI) collegato a GENETICA 2000	BOVINA	SEMEX ITALIA
STUDIO VETERINARIO CRISTELLA - S. DANIELE PO (CR)	EQUINA	CRISTELLA
TRESAC GENESI - PONTERANICA (BG) collegato a STUDIO VETERINARIO CRISTELLA	EQUINA	TRESAC

# **PRODUZIONE SEMINALE ED IMPORTAZIONE**

**TABELLA N.** : 2  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : PAILLETTES E PARTITE DICHIARATE  
**SPECIE** : BOVINA

<b>CENTRO</b>	<b>PAILLETTES PRODOTTE</b>	<b>PARTITE PRODOTTE</b>
ALPENSEME	486497	1153
ANABORAPI	289030	671
ANABORAVA	62345	247
CIZ-PI	1168273	2101
CIZ-PR	179088	398
COFA	378796	1412
CT-CURTATONE	259890	1382
CT-MACERATA	46674	188
CT-PERUGIA	242982	538
CT-UDINE	237513	699
ELPZOO	1025721 <sup>a</sup>	2419 <sup>a</sup>
GENETICA 2000	622955	1982
INTERMIZOO	459284	1626
ITALGENETICS	47242	318
SEMENITALY-FO	220770	601
SEMENITALY-MO	603426	2220
<b>TOTALE</b>	<b>6330486</b>	<b>17955</b>

<sup>a</sup> di cui 2486 paillettes e 4 partite prodotte per l'esportazione

**TABELLA N.** : 3  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : PAILLETTES E PARTITE DICHIARATE  
**SPECIE** : EQUINA

CENTRO	PAILLETTES PRODOTTE	PARTITE PRODOTTE
CT-UDINE	416	5
CRISTELLA	2427	13
LA SERENISSIMA	1089 <sup>b</sup>	24 <sup>b</sup>
LE FONTANETTE	4158	55
ORSI MANGELLI	3243	48
QUERCIA VERDE	196	6
<b>TOTALE</b>	<b>11529</b>	<b>151</b>

<sup>b</sup>paillettes e partite prodotte per l'esportazione

**TABELLA N.** : 4  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : PAILLETES E PARTITE DICHIARATE  
**SPECIE** : SUINA

<b>CENTRO</b>	<b>PAILLETES PRODOTTE</b>	<b>PARTITE PRODOTTE</b>
<b>CT-ANCONA</b>	<b>1494</b>	<b>10</b>
<b>ELPZOO</b>	<b>1326</b>	<b>43</b>
<b>TOTALE</b>	<b>2820</b>	<b>53</b>

**TABELLA N.** : 5  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : PAILLETTES E PARTITE DICHIARATE  
**SPECIE** : BOVINA

<b>CENTRO\ IMPORTATORE</b>	<b>CENTRO COLLEGATO</b>	<b>PAILLETTES IMPORTATE</b>	<b>PARTITE IMPORTATE</b>
<b>ALPENSEME</b>		<b>16544</b>	<b>54</b>
<b>ABS</b>	<b>COFA</b>	<b>102242</b>	<b>185</b>
<b>BEST SIRES</b>	<b>INTERMIZOO</b>	<b>45266</b>	<b>145</b>
<b>CIZ-PI</b>		<b>1000</b>	<b>2</b>
<b>CIZ-PR</b>		<b>21820</b>	<b>73</b>
<b>COSAPAM</b>	<b>INTERMIZOO</b>	<b>82715</b>	<b>199</b>
<b>CT-UDINE</b>		<b>8995</b>	<b>42</b>
<b>ELPZOO</b>		<b>32155</b>	<b>69</b>
<b>GENETICA 2000</b>		<b>8950</b>	<b>44</b>
<b>INTERMIZOO</b>		<b>5900</b>	<b>12</b>
<b>ITALGENETICS</b>		<b>53616</b>	<b>94</b>
<b>QUALITY SEMEN</b>	<b>GENETICA 2000</b>	<b>116295</b>	<b>238</b>
<b>SEMENITALY-MO</b>		<b>14919</b>	<b>102</b>
<b>SEMEX ITALIA</b>	<b>GENETICA 2000</b>	<b>170549</b>	<b>391</b>
<b>TOTALE</b>		<b>680966</b>	<b>1650</b>



**TABELLA N.** : 6  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : PAILLETTES E PARTITE DICHIARATE  
**SPECIE** : EQUINA

<b>CENTRO\ IMPORTATORE</b>	<b>CENTRO COLLEGATO</b>	<b>PAILLETTES IMPORTATE</b>	<b>PARTITE IMPORTATE</b>
<b>CENTAURO</b>	<b>CRISTELLA</b>	<b>56</b>	<b>2</b>
<b>EURO GENETIC</b>	<b>CRISTELLA</b>	<b>1046</b>	<b>12</b>
<b>LA BASSETTA</b>	<b>SOCCINI</b>	<b>2048</b>	<b>25</b>
<b>LE FONTANETTE</b>		<b>1904</b>	<b>46</b>
<b>PONTE ALTO</b>	<b>CRISTELLA</b>	<b>169</b>	<b>18</b>
<b>QUALITY SEMEN</b>	<b>CRISTELLA</b>	<b>2563</b>	<b>48</b>
<b>TRESAC</b>	<b>CRISTELLA</b>	<b>4839</b>	<b>34</b>
<b>TOTALE</b>		<b>12625</b>	<b>185</b>

**CAMPIONAMENTI EFFETTUATI E VERIFICA  
CORRETTA AUTOCERTIFICAZIONE**

**TABELLA N.** : 7  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : CAMPIONAMENTI EFFETTUATI E PARTITE A.E.  
**SPECIE** : BOVINA

<b>CENTRO</b>	<b>NUMERO CAMPIONAMENTI</b>	<b>PARTITE PRODOTTE CAMPIONATE</b>	<b>PARTITE PRODOTTE A.E.</b>
<b>ALPENSEME</b>	11	148	0
<b>ANABORAPI</b>	10	86	0
<b>ANABORAVA</b>	4	27	0
<b>CIZ-PI</b>	11	256	1
<b>CIZ-PR</b>	10	51	0
<b>COFA</b>	12	175	0
<b>CT-CURTATONE</b>	11	170	7
<b>CT-MACERATA</b>	11	27	0
<b>CT-PERUGIA</b>	10	69	0
<b>CT-UDINE</b>	11	90	0
<b>ELPZOO</b>	12	290	2
<b>GENETICA 2000</b>	11	239	2
<b>INTERMIZOO</b>	11	192	0
<b>ITALGENETICS</b>	10	39	0
<b>SEMENITALY-FO</b>	10	85	0
<b>SEMENITALY-MO</b>	12	272	1
<b>TOTALE</b>	167	2216	13

**TABELLA N.** : 8  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : CAMPIONAMENTI EFFETTUATI E PARTITE A.E.  
**SPECIE** : EQUINA

<b>CENTRO</b>	<b>NUMERO CAMPIONAMENTI</b>	<b>PARTITE PRODOTTE CAMPIONATE</b>	<b>PARTITE PRODOTTE A.E.</b>
<b>CT-UDINE</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>CRISTELLA</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>LE FONTANETTE</b>	<b>2</b>	<b>10</b>	<b>0</b>
<b>ORSI MANGELLI</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>2</b>
<b>TOTALE</b>	<b>7</b>	<b>18</b>	<b>3</b>

**TABELLA N.** : 9  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : CAMPIONAMENTI EFFETTUATI E PARTITE A.E.  
**SPECIE** : SUINA

<b>CENTRO</b>	<b>NUMERO CAMPIONAMENTI</b>	<b>PARTITE PRODOTTE CAMPIONATE</b>	<b>PARTITE PRODOTTE A.E.</b>
<b>ELPZOO</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>0</b>

**TABELLA N.** : 10  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : CAMPIONAMENTI EFFETTUATI E PARTITE A.E.  
**SPECIE** : BOVINA

<b>CENTRO\ IMPORTATORE</b>	<b>NUMERO CAMPIONAMENTI</b>	<b>PARTITE IMPORTATE CAMPIONATE</b>	<b>PARTITE IMPORTATE A.E.</b>
<b>ALPENSEME</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>0</b>
<b>ABS</b>	<b>7</b>	<b>20</b>	<b>1</b>
<b>BEST SIRES</b>	<b>6</b>	<b>15</b>	<b>7</b>
<b>CIZ-PR</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>0</b>
<b>COSAPAM</b>	<b>7</b>	<b>21</b>	<b>12</b>
<b>CT-UDINE</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>0</b>
<b>ELPZOO</b>	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>0</b>
<b>GENETICA 2000</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>0</b>
<b>INTERMIZOO</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>ITALGENETICS</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>3</b>
<b>QUALITY SEMEN</b>	<b>5</b>	<b>27</b>	<b>0</b>
<b>SEMENITALY-MO</b>	<b>5</b>	<b>12</b>	<b>0</b>
<b>SEMEX ITALIA</b>	<b>13</b>	<b>47</b>	<b>4</b>
<b>TOTALE</b>	<b>65</b>	<b>188</b>	<b>27</b>

**TABELLA N.** : 11  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : CAMPIONAMENTI EFFETTUATI E PARTITE A.E.  
**SPECIE** : EQUINA

<b>CENTRO\ IMPORTATORE</b>	<b>NUMERO CAMPIONAMENTI</b>	<b>PARTITE IMPORTATE CAMPIONATE</b>	<b>PARTITE IMPORTATE A.E.</b>
<b>LA BASSETTA</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>0</b>
<b>LE FONTANETTE</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>2</b>
<b>QUALITY SEMEN</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>0</b>
<b>TRESAC</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>TOTALE</b>	<b>7</b>	<b>17</b>	<b>2</b>

# **STATISTICHE ANALISI SEMINALE**



**TABELLA N.** : 12  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : CONCENTRAZIONE TOTALE (CT) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : BOVINA

CENTRO	CT (CENTRO) (media±dev.std)	CT (CENTRO) (min-max)	CT (ISTITUTO) (media±dev.std)	CT (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ALPENSEME	15.9±1.1	13.4-18.2	17.4±4.8	9.3-34.2	154
ANABORAPI	17.5±2.1	13.4-26.0	18.0±4.9	10.1-36.2	86
ANABORAVA	17.2±2.4	12.9-21.0	18.5±7.3	9.3-49.5	29
CIZ-PI	15.1±2.1	10.0-24.9	13.3±4.2	6.0-37.6	262
CIZ-PR	13.2±2.3	10.0-18.0	14.4±7.5	6.0-43.3	51
COFA	11.9±1.2	9.0-16.0	16.1±3.7	8.1-30.3	175
CT-CURTATONE	22.9±7.8	8.0-49.0	18.3±8.2	6.3-53.6	183
CT-MACERATA	41.2±1.0	39.8-44.3	37.6±8.3	25.5-63.6	28
CT-PERUGIA	12.2±2.0	9.0-20.0	20.9±7.4	10.6-54.5	71
CT-UDINE	20.7±2.4	15.4-30.4	20.3±3.7	13.5-30.7	92
ELPZOO	19.1±2.5	12.0-34.8	16.4±3.3	8.4-29.6	307
GENETICA 2000	21.6±4.2	9.0-30.0	22.6±5.6	7.2-37.5	243
INTERMIZOO	15.1±2.7	10.0-28.8	17.0±3.7	9.7-29.2	193
ITALGENETICS	11.9±0.8	11.0-13.0	15.1±4.9	7.1-29.6	39
SEMENITALY-FO	21.8±7.3	10.3-45.0	23.0±7.2	11.7-42.3	85
SEMENITALY-MO	19.3±5.5	7.5-34.7	19.0±5.5	6.8-40.1	274
<b>TOTALE</b>	<b>18.0±5.8</b>	<b>7.5-49.0</b>	<b>18.1±6.3</b>	<b>6.0-63.6</b>	<b>2272</b>

**TABELLA N.** : 13  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : CONCENTRAZIONE TOTALE (CT) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : EQUINA

CENTRO	CT (CENTRO) (media±dev.std)	CT (CENTRO) (min-max)	CT (ISTITUTO) (media±dev.std)	CT (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
CT-UDINE	56.7	56.7	60.2	60.2	1
CRISTELLA	90.0±8.7	85.0-100.0	43.3±10.1	32.4-52.3	3
LE FONTANETTE	34.9±13.7	25.0-60.0	97.5±26.7	60.3-150.5	11
ORSI MANGELLI	75.0±20.7	50.0-90.0	84.9±30.1	56.3-154.0	8
<b>TOTALE</b>	<b>57.0±27.19</b>	<b>25.0-100.0</b>	<b>84.4±31.1</b>	<b>32.4-154.0</b>	<b>23</b>

**TABELLA N.** : 14  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : CONCENTRAZIONE TOTALE (CT) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : SUINA

CENTRO	CT (CENTRO) (media±dev.std)	CT (CENTRO) (min-max)	CT (ISTITUTO) (media±dev.std)	CT (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ELPZOO	502.0±4.5	500.0-510.0	500.8±92.4	386.7-589.5	5

**TABELLA N.** : 15  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : CONCENTRAZIONE TOTALE (CT) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : BOVINA

CENTRO\ IMPORTATORE	CT (CENTRO) (media±dev.std)	CT (CENTRO) (min-max)	CT (ISTITUTO) (media±dev.std)	CT (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ALPENSEME	16.0±5.3	7.0-22.5	16.9±3.9	11.3-22.2	7
ABS	16.5±3.9	9.0-25.0	10.3±3.3	6.0-17.3	22
BEST SIRES	16.0±3.3	10.0-20.0	9.1±2.0	6.5-13.1	22
CIZ-PR	17.7±5.3	10.0-30.0	15.5±5.5	8.6-24.7	10
COSAPAM	16.5±3.5	10.0-20.0	9.1±2.4	4.2-14.8	33
CT-UDINE	16.3±4.8	12.5-23.6	17.2±6.5	11.3-27.2	5
ELPZOO	18.6±5.6	12.0-25.0	16.9±6.8	8.5-24.6	7
GENETICA 2000	25.8±16.5	10.4-52.1	30.1±12.3	14.3-44.8	6
INTERMIZOO	19.6	19.6	19.9	19.9	1
ITALGENETICS	9.6±2.7	7.5-14.3	7.7±1.3	5.3-9.6	14
QUALITY SEMEN	11.4±3.0	7.5-20.0	11.2±3.8	5.2-17.4	27
SEMENITALY-MO	13.6±3.8	9.0-23.3	14.4±6.8	7.7-27.5	13
SEMEX ITALIA	15.1±4.3	8.0-25.0	10.2±4.7	3.6-23.7	54
<b>TOTALE</b>	<b>15.2±5.4</b>	<b>7.0-52.1</b>	<b>11.5±5.9</b>	<b>3.6-44.8</b>	<b>221</b>

**TABELLA N.** : 16  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : CONCENTRAZIONE TOTALE (CT) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : EQUINA

CENTRO\ IMPORTATORE	CT (CENTRO) (media±dev.std)	CT (CENTRO) (min-max)	CT (ISTITUTO) (media±dev.std)	CT (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
LA BASSETTA	50.0	50.0	55.5±0.4	55.2-55.8	2
LE FONTANETTE	75.0±26.7	50.0-100.0	93.2±36.6	45.5-152.8	8
QUALITY SEMEN	59.4±14.3	40.0-80.0	126.1±41.3	70.9-169.3	5
TRESAC	72.4±5.5	66.5-79.0	73.0±48.7	43.7-145.9	4
<b>TOTALE</b>	<b>67.7±20.3</b>	<b>40.0-100.0</b>	<b>93.6±42.9</b>	<b>43.7-169.3</b>	<b>19</b>

**TABELLA N.** : 17  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : MOTILITA' PROGRESSIVA (MP) (%)  
**SPECIE** : BOVINA

CENTRO	MP (CENTRO) (media±dev.std)	MP (CENTRO) (min-max)	MP (ISTITUTO) (media±dev.std)	MP (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ALPENSEME	42.5±5.6	29.0-55.0	39.7±8.4	19.0-62.0	154
ANABORAPI	45.6±5.7	30.0-56.0	47.1±11.5	25.0-79.0	86
ANABORAVA	49.1±8.9	35.0-65.0	45.2±8.0	30.0-61.0	29
CIZ-PI	42.5±8.3	20.0-65.0	47.4±10.6	8.0-76.0	262
CIZ-PR	35.9±4.3	25.0-43.0	46.1±11.9	14.0-71.0	51
COFA	42.1±5.1	28.0-60.0	45.8±10.2	17.0-69.0	175
CT-CURTATONE	32.2±6.5	20.0-50.0	36.3±8.5	18.0-55.0	183
CT-MACERATA	38.0±2.7	30.0-43.0	40.9±7.6	18.0-55.0	28
CT-PERUGIA	38.1±5.4	25.0-48.0	39.8±11.9	10.0-60.0	71
CT-UDINE	34.4±7.5	22.0-53.0	36.3±9.1	17.0-60.0	92
ELPZOO	38.7±6.8	20.0-65.0	35.4±9.0	14.0-66.0	307
GENETICA 2000	46.6±7.7	25.0-65.0	51.2±12.6	12.0-76.0	243
INTERMIZOO	45.5±7.4	32.0-65.0	41.2±10.0	20.0-71.0	193
ITALGENETICS	45.1±0.7	44.0-46.0	43.3±12.2	19.0-70.0	39
SEMENITALY-FO	30.4±6.2	20.0-50.0	36.4±8.6	14.0-55.0	85
SEMENITALY-MO	40.1±8.6	20.0-66.0	44.1±10.3	19.0-69.0	274
<b>TOTALE</b>	<b>40.6±8.4</b>	<b>20.0-66.0</b>	<b>42.4±11.4</b>	<b>8.0-79.0</b>	<b>2272</b>

**TABELLA N.** : 18  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : MOTILITA' PROGRESSIVA (MP) (%)  
**SPECIE** : EQUINA

CENTRO	MP (CENTRO) (media±dev.std)	MP (CENTRO) (min-max)	MP (ISTITUTO) (media±dev.std)	MP (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
CT-UDINE	24.0	24.0	30.0	30.0	1
CRISTELLA	33.3±1.4	32.5-35.0	26.3±12.1	15.0-39.0	3
LE FONTANETTE	34.1±6.6	25.0-50.0	30.8±13.1	8.5-47.0	11
ORSI MANGELLI	40.0±8.9	30.0-50.0	19.1±14.1	8.0-46.0	8
<b>TOTALE</b>	<b>35.6±7.8</b>	<b>24.0-50.0</b>	<b>26.1±13.6</b>	<b>8.0-47.0</b>	<b>23</b>

**TABELLA N.** : 19  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : MOTILITA' PROGRESSIVA (MP) (%)  
**SPECIE** : SUINA

CENTRO	MP (CENTRO) (media±dev.std)	MP (CENTRO) (min-max)	MP (ISTITUTO) (media±dev.std)	MP (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ELPZOO	43.2±7.7	32.0-52.0	41.6±14.3	28.0-63.0	5



**TABELLA N.** : 20  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : MOTILITA' PROGRESSIVA (MP) (%)  
**SPECIE** : BOVINA

CENTRO\ IMPORTATORE	MP (CENTRO) (media±dev.std)	MP (CENTRO) (min-max)	MP (ISTITUTO) (media±dev.std)	MP (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ALPENSEME	37.6±3.7	31.0-41.0	47.0±9.2	35.0-60.0	7
ABS	46.0±6.6	34.0-58.0	49.5±8.5	34.0-66.0	22
BEST SIRES	61.8±9.1	45.0-75.0	51.9±9.1	34.0-68.0	22
CIZ-PR	46.5±9.4	35.0-65.0	50.6±12.9	30.0-70.0	10
COSAPAM	65.3±9.9	45.0-75.0	54.8±6.7	42.0-65.0	33
CT-UDINE	30.4±3.2	28.0-36.0	40.0±5.4	31.0-45.0	5
ELPZOO	50.0±7.1	40.0-60.0	42.1±13.4	27.0-63.0	7
GENETICA 2000	41.2±9.5	35.0-60.0	40.8±6.8	31.0-49.0	6
INTERMIZOO	50.0	50.0	44.0	44.0	1
ITALGENETICS	63.9±3.5	60.0-70.0	38.4±11.7	19.0-55.0	14
QUALITY SEMEN	44.4±5.4	35.0-55.0	43.1±10.8	21.0-59.0	27
SEMENITALY-MO	32.6±5.0	25.0-42.0	36.8±12.7	8.0-53.0	13
SEMEX ITALIA	44.2±5.4	30.0-50.0	52.6±9.5	33.0-70.0	54
<b>TOTALE</b>	<b>49.6±12.5</b>	<b>25.0-75.0</b>	<b>48.3±11.1</b>	<b>8.0-70.0</b>	<b>221</b>

**TABELLA N.** : 21  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : MOTILITA' PROGRESSIVA (MP) (%)  
**SPECIE** : EQUINA

CENTRO\ IMPORTATORE	MP (CENTRO) (media±dev.std)	MP (CENTRO) (min-max)	MP (ISTITUTO) (media±dev.std)	MP (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
LA BASSETTA	35.0	35.0	50.0±11.3	42.0-58.0	2
LE FONTANETTE	45.4±6.2	38.0-57.0	21.9±20.8	0.1-58.0	8
QUALITY SEMEN	46.6±3.0	45.0-52.0	33.0±11.9	22.0-50.0	5
TRESAC	33.8±6.3	25.0-40.0	45.8±7.7	35.0-53.0	4
<b>TOTALE</b>	<b>42.2±7.4</b>	<b>25.0-57.0</b>	<b>32.8±18.4</b>	<b>0.1-58.0</b>	<b>19</b>

**TABELLA N.** : 22  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : NUMERO SPERMI PROGRESSIVAMENTE MOBILI  
 (NSPM) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : BOVINA

CENTRO	NSPM (CENTRO) (media±dev.std)	NSPM (CENTRO) (min-max)	NSPM(ISTITUTO) (media±dev.std)	NSPM(ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ALPENSEME	6.7±1.0	4.4-9.4	6.9±2.4	2.5-15.7	154
ANABORAPI	7.9±0.9	5.0-9.9	8.2±1.9	4.4-13.8	86
ANABORAVA	8.4±1.8	4.5-12.0	8.1±2.2	3.9-14.9	29
CIZ-PI	6.4±1.4	3.2-12.1	6.2±1.9	1.0-17.7	262
CIZ-PR	4.7±0.9	2.6-7.0	6.5±3.7	2.7-20.8	51
COFA	5.0±0.8	3.1-6.8	7.3±2.2	2.3-14.4	175
CT-CURTATONE	7.4±2.9	2.1-17.8	6.7±3.5	1.6-21.4	183
CT-MACERATA	15.6±1.1	13.3-17.7	15.3±4.0	7.1-24.8	28
CT-PERUGIA	4.7±1.1	2.7-8.0	8.0±2.9	2.4-15.3	71
CT-UDINE	7.1±1.5	4.3-10.7	7.4±2.2	3.3-12.7	92
ELPZOO	7.4±1.5	3.7-16.3	5.8±1.9	2.0-14.8	307
GENETICA 2000	10.0±2.5	2.7-15.0	11.3±3.3	1.6-18.7	243
INTERMIZOO	6.8±1.2	4.5-11.4	6.9±2.0	3.3-13.8	193
ITALGENETICS	5.4±0.5	4.8-6.0	6.3±2.2	3.5-11.0	39
SEMENITALY-FO	6.5±2.3	2.8-14.6	8.3±3.1	2.5-17.0	85
SEMENITALY-MO	7.6±2.3	2.3-15.1	8.2±2.6	3.1-17.0	274
<b>TOTALE</b>	<b>7.2±2.4</b>	<b>2.1-17.8</b>	<b>7.6±3.1</b>	<b>1.0-24.8</b>	<b>2272</b>

**TABELLA N.** : 23  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : NUMERO SPERMI PROGRESSIVAMENTE MOBILI  
 (NSPM) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : EQUINA

CENTRO	NSPM (CENTRO) (media±dev.std)	NSPM (CENTRO) (min-max)	NSPM (ISTITUTO) (media±dev.std)	NSPM (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
CT-UDINE	13.6	13.6	18.1	18.1	1
CRISTELLA	30.1±4.3	27.6-35.0	11.8±7.5	6.8-20.4	3
LE FONTANETTE	11.7±4.5	7.5-18.0	29.3±13.8	10.6-52.9	11
ORSI MANGELLI	28.5±4.1	25.0-36.0	18.8±22.1	6.2-70.8	8
TOTALE	20.0±9.6	7.5-36.0	22.9±17.1	6.2-70.8	23

**TABELLA N.** : 24  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : NUMERO SPERMI PROGRESSIVAMENTE MOBILI  
 (NSPM) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : SUINA

CENTRO	NSPM (CENTRO) (media±dev.std)	NSPM (CENTRO) (min-max)	NSPM (ISTITUTO) (media±dev.std)	NSPM (ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ELPZOO	216.6±37.3	163.2-260.0	209.7±88.5	116.7-356.0	5

**TABELLA N.** : 25  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : NUMERO SPERMI PROGRESSIVAMENTE MOBILI  
 (NSPM) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : BOVINA

CENTRO\ IMPORTATORE	NSPM (CENTRO) (media±dev.std)	NSPM (CENTRO) (min-max)	NSPM(ISTITUTO) (media±dev.std)	NSPM(ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
ALPENSEME	6.2±2.4	2.2-9.7	7.8±2.1	5.4-11.9	7
ABS	7.5±1.7	5.0-11.3	4.9±1.2	3.0-6.9	22
BEST SIRES	10.0±2.8	5.0-14.0	4.7±1.2	2.9-8.1	22
CIZ-PR	8.6±4.2	3.5-18.0	7.6±2.9	4.4-14.8	10
COSAPAM	10.7±2.5	6.8-15.0	5.0±1.4	2.5-9.0	33
CT-UDINE	5.1±2.1	3.6-8.5	7.0±3.3	4.5-12.2	5
ELPZOO	9.0±1.6	6.6-11.3	6.4±1.2	4.3-7.6	7
GENETICA 2000	10.5±6.6	4.1-18.2	11.9±4.1	6.4-15.2	6
INTERMIZOO	9.8	9.8	8.8	8.8	1
ITALGENETICS	6.1±1.8	4.5-9.3	3.0±1.1	1.3-4.7	14
QUALITY SEMEN	5.0±1.3	2.6-8.0	4.9±2.2	1.5-9.8	27
SEMENITALY-MO	4.4±1.3	3.3-8.4	5.6±3.6	0.7-11.5	13
SEMEX ITALIA	6.7±2.0	3.0-11.3	5.4±2.6	1.7-11.3	54
<b>TOTALE</b>	<b>7.5±3.1</b>	<b>2.2-18.2</b>	<b>5.4±2.6</b>	<b>0.7-15.2</b>	<b>221</b>

**TABELLA N.** : 26  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : NUMERO SPERMI PROGRESSIVAMENTE MOBILI  
 (NSPM) (milioni/paillette)  
**SPECIE** : EQUINA

CENTRO\ IMPORTATORE	NSPM (CENTRO) (media±dev.std)	NSPM (CENTRO) (min-max)	NSPM(ISTITUTO) (media±dev.std)	NSPM(ISTITUTO) (min-max)	N. CASI
LA BASSETTA	17.5	17.5	27.8±6.5	23.2-32.4	2
LE FONTANETTE	32.9±9.1	22.5-44.0	14.6±12.1	0.1-33.9	8
QUALITY SEMEN	27.6±6.4	18.0-36.0	44.9±27.8	16.3-84.7	5
TRESAC	24.2±3.5	19.8-27.8	30.9±13.8	20.1-51.1	4
<b>TOTALE</b>	<b>28.1±8.3</b>	<b>17.5-44.0</b>	<b>27.4±20.6</b>	<b>0.1-84.7</b>	<b>19</b>

## Carta di Controllo in Unità di Errore Standard

**TABELLA N.** : 27  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** :  $\Delta$ NSPM=NSPM (Istituto)-NSPM (Centro)  
 (milioni/paillette)  
**SPECIE** : BOVINA

	-10.00	-3.00	3.00	-10.00
	Sovrastima		Sottostima	
-0.90 ALPENSEME		*		
-0.30 ANABORAPI		*		
-1.39 ANABORAVA		*		
-3.40 [-] CIZ-PI	*			
3.65 [+] CIZ-PR			*	
9.30 [+] COFA				*
-4.95 [-] CT-	*			
-2.42 CT-		*		
9.28 [+] CT-				*
-0.21 CT-		*		
-12.32 [-] < ELPZOO				
5.14 [+] GENETICA2000			*	
-0.96 INTERMIZOO		*		
1.30 ITALGENETICS			*	
4.88 [+] SEMENITALY-FO			*	
1.62 SEMENITALY-MO		*		

Il diagramma considera la variabile  $\Delta$ NSPM=NSPM(Istituto)-NSPM(Centro); e' stata poi calcolata la differenza fra la media di  $\Delta$ NSPM per ogni Centro e la media generale, e tale scarto e' stato espresso in Unità di Errore Standard (UES). I Centri con il valore dello scarto nella fascia di sinistra misurano il NSPM in maniera significativamente maggiore (sovrastimano) a quanto fa l'Istituto, i Centri che ricadono nella fascia centrale misurano in maniera analoga a quanto fa l'Istituto, i Centri con i valori nella fascia di destra misurano NSPM in maniera significativamente minore (sottostimano) a quanto fa l'Istituto.



**ESTRAZIONI DNA EFFETTUATE E VERIFICA  
CORRETTA IDENTIFICAZIONE**

**TABELLA N.** : 28  
**ANNO** : dal 1997  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : ESTRAZIONI DNA DI RIFERIMENTO  
**SPECIE** : BOVINA

<b>CENTRO</b>	<b>NUMERO ESTRAZIONI DNA DI RIFERIMENTO</b>
ALPENSEME	200
ANABORAPI	89
ANABORAVA	86
CIZ-PI	241
CIZ-PR	46
COFA	147
CT-CURTATONE	90
CT-MACERATA	7
CT-PERUGIA	43
CT-UDINE	76
ELPZOO	228
GENETICA 2000	211
INTERMIZOO	338
ITALGENETICS	30
SEMENITALY-FO	29
SEMENITALY-MO	311
<b>TOTALE</b>	<b>2172</b>

**TABELLA N.** : 29  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : PRODUZIONE NAZIONALE  
**VARIABILE** : VERIFICHE CORRETTA IDENTIFICAZIONE E PARTITE I.E.  
**SPECIE** : BOVINA

CENTRO	VERIFICHE CORRETTA IDENTIFICAZIONE	PARTITE PRODOTTE I.E.
ALPENSEME	148	0
ANABORAPI	86	0
ANABORAVA	27	0
CIZ-PI	252	1
CIZ-PR	51	0
COFA	168	0
CT-CURTATONE	161	0
CT-MACERATA	27	1
CT-PERUGIA	69	0
CT-UDINE	85	0
ELPZOO	290	0
GENETICA 2000	236	0
INTERMIZOO	192	0
ITALGENETICS	38	0
SEMENITALY-FO	85	0
SEMENITALY-MO	272	0
<b>TOTALE</b>	<b>2187</b>	<b>2</b>

**TABELLA N.** : 30  
**ANNO** : dal 1997  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : ESTRAZIONI DNA DI RIFERIMENTO  
**SPECIE** : BOVINA

<b>CENTRO\ IMPORTATORE</b>	<b>NUMERO ESTRAZIONI DNA DI RIFERIMENTO</b>
ALPENSEME	8
ABS	12
BEST SIRES	21
CIZ-PI	1
CIZ-PR	9
COSAPAM	26
CT-PERUGIA	2
CT-UDINE	7
ELPZOO	5
GENETICA 2000	17
INTERMIZOO	5
ITALGENETICS	8
QUALITY SEMEN	16
SEMENITALY-MO	12
SEMEX ITALIA	47
<b>TOTALE</b>	<b>196</b>

**TABELLA N.** : 31  
**ANNO** : 1998  
**PROVENIENZA SEME** : IMPORTAZIONE  
**VARIABILE** : VERIFICHE CORRETTA IDENTIFICAZIONE E PARTITE I.E.  
**SPECIE** : BOVINA

<b>CENTRO\IMPORTATORE</b>	<b>VERIFICHE CORRETTA IDENTIFICAZIONE</b>	<b>PARTITE PRODOTTE I.E.</b>
<b>ABS</b>	<b>11</b>	<b>0</b>
<b>BEST SIRES</b>	<b>11</b>	<b>0</b>
<b>CIZ-PR</b>	<b>6</b>	<b>0</b>
<b>COSAPAM</b>	<b>11</b>	<b>0</b>
<b>ELPZOO</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>GENETICA 2000</b>	<b>4</b>	<b>0</b>
<b>ITALGENETICS</b>	<b>5</b>	<b>0</b>
<b>QUALITY SEMEN</b>	<b>18</b>	<b>0</b>
<b>SEMENITALY-MO</b>	<b>6</b>	<b>0</b>
<b>SEMEX ITALIA</b>	<b>36</b>	<b>0</b>
<b>TOTALE</b>	<b>112</b>	<b>0</b>



# Minimum Information Required to be Printed on Bovine Semen Straws

Canadian Association of Animal Breeders and National Association of Animal Breeders

## TEMPLATE

Reg. Num.	Reg. Name	AI CenterCode	BreedCode	Bull Number
12 alpha/numeric 3 alpha	30 alpha	3 numeric	2 alpha	5 numeric
Complete Uniform Code				

*Istituto Sperimentale Italiano Lazzaro Spallanzani*

**IL CONTROLLO UFFICIALE DEL SEME**

**- ANNO 1998 -**

**ALLEGATI**

*Ministero per le Politiche Agricole*

**D.M. 27 dicembre 1994**



