

**Effetto della somministrazione di licopene sulla qualità del seme di coniglio:
risultati preliminari**

Toschi I.¹, Mangiagalli M.G.¹, Cesari V.¹, Luzi F.¹, Cerolini S.², Marelli S.¹

¹Dipartimento di Scienze Animali, Università di Milano, Italy

²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare,
Università di Milano, Italy

Corresponding Author: Ivan Toschi, Dipartimento di Scienze Animali, Università di Milano, Via Celoria 2, 20133 Milano (MI), Italy - Tel. +39 02 50316447 - Fax: +39 02 50316434 - Email: ivan.toschi@unimi.it

ABSTRACT: Preliminary results: effect of lycopene administration on semen quality of rabbit. A total of 18 hybrid strain Martini male rabbits were randomly divided into three experimental groups. The animals of the first and the second group drank water with 0.1 (group A) and 0.5 (group B) g/l of lycopene addition (A and B groups, respectively), while water without any supplementation was administered to the rabbits of the control group (C), 8 weeks treatment. Semen was collected from 18 bucks (6 animals/group) for 5 consecutive weeks. Ejaculate volume was determined by graduated test-tube and sperm concentration was calculated by Neubauer chamber. Sperm motility was evaluated subjectively by a phase contrast microscope. FPM was scored 1÷4 (low-high). Sperm viability was assessed by nigrosin/eosin (N/E) staining procedure. Data reported showed that the highest level of lycopene (group B) resulted in a significantly greater volume of ejaculate and total number of sperm than in the control group (0.98 vs. 0.78 ml, $P < 0.05$; 364 vs. 227, $P < 0.01$), while sperm concentration was not affected. The lycopene addition, however, did not significantly influence progression parameters immediately measured after sampling ($t=0h$). These preliminary results underline the positive effects of lycopene supplementation on ejaculate volume and sperm number. Further investigations are needed on the role of this antioxidant which could have interesting applications in field conditions.

Key words: Lycopene, Antioxidants, Semen quality, Rabbit bucks.

INTRODUZIONE – Lo stress ossidativo è considerato uno dei principali fattori che contribuiscono a influenzare negativamente la qualità del materiale seminale e a ridurre la fertilità sia nell'uomo, sia negli animali (Baker *et al.*, 1996; Aitken *et al.*, 2003). La membrana dello spermatozoo è caratterizzata da un'elevata presenza di acidi grassi polinsaturi che determina uno spiccato aumento della sua suscettibilità all'ossidazione e che suggerisce l'opportunità di utilizzare molecole ad azione antiossidante per contrastare i fenomeni di perossidazione lipidica (Agarwal *et al.*, 2004). L'azione antiossidante del licopene, pigmento carotenoidico di origine naturale presente in molti vegetali quali pomodoro, pompelmo rosa, papaya e anguria, è stato recentemente studiato negli uccelli, nel ratto e nell'uomo (Martino *et al.*, 2006; Turk *et al.*, 2007; Goyal *et al.*, 2007). In quest'ultimo, in particolare, è stato evidenziato che ad una inferiore ingestione di licopene con la dieta è associata una minore qualità del materiale seminale (Mendiola *et al.*, 2010). Nel gallo, Mangiagalli *et al.* (2010) hanno evidenziato effetti positivi dell'aggiunta di licopene sia sulle caratteristiche qualitative

del materiale seminale, sia sulla fertilità. Lo scopo del presente lavoro è stato quindi quello di valutare l'effetto della somministrazione di licopene sulle caratteristiche qualitative del materiale seminale di coniglio.

MATERIALI E METODI – La prova è stata condotta su 18 maschi ibridi Martini stabulati in gabbie individuali e alimentati *ad libitum* con un mangime commerciale (16,2 % PG e 10,7 MJ/kg ED). Dopo un congruo periodo di adattamento al prelievo del seme, i conigli sono stati suddivisi in 3 gruppi (6 animali/gruppo) ai quali sono stati somministrate, per un periodo di 8 settimane, 3 differenti concentrazioni di Lycopene 10% WS (Roche Vitamins, Base, Switzerland) nell'acqua di bevanda (gruppo A: 0,1 g/l di licopene; gruppo B: 0,5 g/l di licopene; gruppo C: assenza di licopene). La raccolta del seme (2 eiaculati/maschio con 15 minuti di intervallo tra i due successivi prelievi) è stata effettuata con frequenza bisettimanale. La qualità del materiale seminale, in termini di volume, concentrazione, motilità e vitalità degli spermatozoi, è stata valutata per 5 settimane consecutive su tutti gli animali in prova (36 settimane di età al momento della prima raccolta). Il volume e la concentrazione sono stati determinati, rispettivamente, mediante provetta graduata e camera di conta Neubauer, mentre la motilità e le classi di motilità (punteggio da 1 a 4) sono state valutate al microscopio ottico (20x; T = 37°C) utilizzando la camera di Makler. La vitalità è stata determinata utilizzando la procedura di colorazione Eosina/Nigrosina.

RISULTATI E CONCLUSIONI – Dai dati riportati in tabella 1 si può evincere come il livello più elevato di licopene abbia determinato un volume dell'eiaculato e un numero totale di spermatozoi significativamente maggiori rispetto a quelli del gruppo di controllo (0,98 vs. 0,78 ml, P<0,05; 364 vs. 227, P<0,01; rispettivamente per il gruppo B e C), ma non differenti da quelli determinati sugli eiaculati degli animali trattati con il livello intermedio di licopene.

Tabella 1 – Effetto della somministrazione di licopene sulle caratteristiche del seme di coniglio (6 animali/gruppo).

	Gruppo A	Gruppo B	Gruppo C
Volume, ml	0,84 ± 0,05 ^{a,b}	0,98 ± 0,05 ^a	0,78 ± 0,05 ^b
Concentrazione, n*10 ⁶ /ml	329 ± 28,7	359 ± 28,7	278 ± 28,7
Numero totale di spermatozoi	285 ± 32,0 ^{A,B}	364 ± 32,0 ^A	227 ± 1,91 ^B

Media ± E.S. ^{A,B}: P < 0,01; ^{a,b}: P < 0,05.

Al significativo aumento del volume e del numero degli spermatozoi, però, non è corrisposto un incremento significativo della concentrazione del materiale seminale, diversamente da quanto rilevato nel gallo da Mangiagalli *et al.* (2010). In assoluto, il volume determinato nei tre gruppi sperimentali è risultato superiore ai valori riportati in bibliografia (Castellini *et al.*, 1999; 2003), a differenza di quanto rilevato per i dati relativi alla concentrazione del seme che è risultata sempre inferiore, in tutti e 3 i gruppi, ai valori riportati nei lavori precedentemente menzionati e da Nizza *et al.* (2002). Il livello di addizione del licopene all'acqua, inoltre, non ha determinato effetti significativi sulle caratteristiche cinetiche del materiale seminale (Tabella 2) valutato al tempo zero (t=0h). Nel complesso, la motilità ha fatto registrare valori inferiori a quelli determinati nel coniglio da altri autori (Nizza *et al.*, 2002), che hanno riportato percentuali di cellule motili prossime al 70%.

Tabella 2 – Effetto della somministrazione di licopene sulle caratteristiche cinetiche del materiale seminale (6 animali/gruppo).

	C	A	B
Motilità (t=0h), %	54,2±2,30	60,0±2,30	57,8±2,30
FPM (t=0h)	1,96±0,09	2,20±0,09	2,14±0,09
Vitalità (t=0h), %	70,7±1,85	74,3±1,80	74,8±1,80

Media ± E.S. FPM: Forward Progression Motility.

La FPM del seme fresco ha presentato valori analoghi a quelli rinvenibili in letteratura e non influenzati dal livello di addizione dell'antiossidante, che non ha determinato variazioni significative neanche sulla vitalità, a differenza di quanto evidenziato nel gallo da Mangiagalli *et al.* (2010). I primi risultati della presente sperimentazione hanno messo quindi in evidenza come l'addizione di livelli crescenti di licopene all'acqua di bevanda non influenzi le caratteristiche qualitative del materiale seminale fresco, ma determini un volume dell'ejaculato e un numero totale di spermatozoi più elevato. L'elevata variabilità osservata nei tre gruppi, però, suggerisce la necessità di ricorrere ad un numero maggiore di animali, al fine di meglio indagare gli effetti di questo antiossidante sulle caratteristiche qualitative del seme di coniglio.

BIBLIOGRAFIA – **Agarwal**, A., Nallella, K.P., Allamaneni, S.R., Said, T.M., 2004. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod. BioMedicine Online* 8:616-627. **Aitken**, R.J., Baker, M.A., Sawyer, D., 2003. Oxidative stress in the male germ line and its role in the aetiology of male fertility and genetic disease. *Reprod. BioMedicine Online* 7:65-70. **Baker**, H.W., Brindle, J., Irvine, D.S., Aitken, R.J., 1996. Protective effect of antioxidants on the impairment of sperm motility by activated polymorphonuclear leukocytes. *Fertil. Steril.* 65:411-419. **Castellini**, C., Lattaioli, P., Bernardini, M., 1999. Effect of dietary supplementation with α -tocopheryl acetate and ascorbic acid on qualitative characteristics and fertilizing ability of rabbit semes. *World Rabbit Sci.* 7:217-220. **Castellini**, C., Lattaioli, P., Dal Bosco, A., Minelli, A., Mugnai, C., 2003. Oxidative status and semen characteristics of rabbit buck as affected by dietary vitamin E, C and n-3 fatty acids. *Repr. Nutr. Dev.* 43:91-103. **Goyal**, A., Chopra, M., Lwaleed, B.A., Birch, B., Cooper, A.J., 2007. The effects of dietary lycopene supplementation on human seminal plasma. *Bju International* 99:1456-1460. **Mangiagalli**, M.G., Martino, P.A., Smajlovic, T., Guidobono Cavalchini, L., Marelli, S.P., 2010. Effect of lycopene on semen quality, fertility and native immunity of broiler breeder. *British Poultry Science* 51:152-157. **Martino**, P.A., Mangiagalli, M.G., Marelli, S.P., Smajlovic, T., Guidobono Cavalchini, L., 2006. Effect of lycopene on semen bacteriological status and native immunity in roosters. In: *Proc. XII European Poultry Conference*, Verona, Italy, p. 62. **Mendiola**, J., Torres-Cantero, A.M., Vioque, J., Moreno-Grau, J.M., Ten, J., Roca, M., Moreno-Grau, S., Bernabeu, R., 2010. A low intake of antioxidant nutrients is associated with poor semen quality in patients attending fertility clinics. *Fertil. Steril.* 93:1128-1133. **Nizza**, A., Di Meo, C., Taranto, S., Stanco, G., 2002. Effect of collection frequency on rabbit semen production. *World Rabbit Sci.* 10:49-52. **Turk**, G., Atessahin, A., Sonmez, M., Yuce, A., Ceribasi, A.O., 2007. Lycopene protects against cyclosporin A induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology* 67:778-785.