

**НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ БИОТЕХНОЛОГИЙ  
В ЗООТЕХНИИ И ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

На правах рукописи  
УДК: 636.3.082.453.53

**БРАДУ НИНА**

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА BioR НА КРИОКОНСЕРВАЦИЮ  
СПЕРМЫ БАРАНА**

421.01. Разведение и биотехнология воспроизводства животных

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
доктора сельскохозяйственных наук

**МАКСИМОВКА, 2023**

Работа выполнена на базе Научно-Практического Института Биотехнологий и Зоотехнии и Ветеринарной Медицины.

**Научный руководитель:**

**ДАРИЕ Григорий Ефимович,**  
доктор хабилитат биологических наук, профессор.

**Научный консультант:**

**РУДИК Валериу,**  
доктор хабилитат биологических наук, профессор, академик.

**Официальные оппоненты:**

**СТРУТИНСКИЙ Тудор,** доктор хабилитат биологических наук, доцент;  
**МАРКОВ Николай,** доктор сельскохозяйственных наук, доцент (Болгария).

**Состав Специализированного Ученого Совета:**

**БАЛАН Иван Васильевич,** председатель, доктор хабилитат биологических наук, доцент;  
**ЛУПОЛОВ Татьяна Анатольевна,** ученый секретарь, доктор сельскохозяйственных наук, доцент;  
**ЛЮЦКАНОВ Пётр Ильич,** доктор хабилитат сельскохозяйственных наук, доцент;  
**ФОКША Валентин Федосеевич,** доктор хабилитат сельскохозяйственных наук, доцент;  
**МАШНЕР Олег Александрович,** доктор сельскохозяйственных наук, доцент.

Защита диссертации состоится 08 сентября 2023 г. в 14.00 часов на заседании Специализированного Ученого Совета D 421.01-23-26 при Научно-Практическом Институте Биотехнологий и Зоотехнии и Ветеринарной Медицины по адресу: с. Максимовка, р-н Анений Ной, MD-6525, ул. Школарз 15.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НПИБЗВМ по адресу: с. Максимовка, р-н Анений Ной, MD-6525, ул. Школарз 15 и на странице web ANACEC, [www.anacec.md](http://www.anacec.md)

Автореферат разослан 04 августа 2023.

**Ученый секретарь Специализированного Ученого Совета:**

**ЛУПОЛОВ Татьяна Анатольевна,**  
доктор сельскохозяйственных наук, доцент.

**Научный руководитель:**

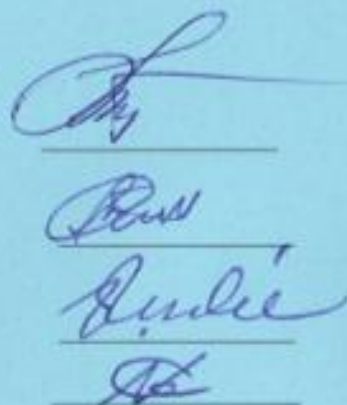
**ДАРИЕ Григорий Ефимович,**  
доктор хабилитат биологических наук, профессор;

**Научный консультант:**

**РУДИК Валериу,**  
доктор хабилитат биологических наук, профессор, академик;

**Автор:**

**БРАДУ Нина**



© Браду Нина, 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	4
СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.....	8
1. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КРИОКОНСЕРВАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ.....	8
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ BioR, ZooBioR-1 и ZooBioR-2 НА КРИОКОНСЕРВАЦИЮ СПЕРМЫ БАРАНА.....	9
3. ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА СПЕРМОПРОДУКЦИЮ .....	11
3.1. Оценка свежеполученной спермы баранов-производителей Цигайской породы молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления.....	11
3.2. Круглогодичное использование высокопродуктивных баранов-производителей.....	14
3.3. Влияние ZooBioR-1 и ZooBioR-2 на воспроизводительные качества баранов- производителей.....	18
4. КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ И ИХ ОПЛОДОТВОРЯЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ .....	22
4.1. Изучение защитного влияния препарата BioR входящего в состав среды для разбавления и замораживания спермы баранов.....	22
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ .....	26
БИБЛИОГРАФИЯ.....	28
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ.....	29
ADNOTARE.....	32
АННОТАЦИЯ .....	33
ANNOTATION .....	34

## **ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**Актуальность темы и значение выбранного направления исследований** заключается в изучении (впервые) уровня спермопродукции баранов-производителей созданного нового молдавского типа Цигайской породы овец шерстно-мясо-молочного направления продуктивности: разработка и внедрение в технологии воспроизводства овец эффективных сред для разбавления и замораживания спермы полученной от высокоценных племенных баранов-производителей и стимуляция сперматогенеза у баранов-производителей в неслучной сезон с целью повышения эффективности искусственного осеменения овец [1, 6, 14, 17].

Для многих районов Республики Молдова овцеводство является традиционной основной отраслью животноводства. За годы реформ ситуация в отрасли овцеводства приобрела критический характер. Овцеводство оказалось в сложной экономической ситуации и низкой приспособляемости к рыночным условиям. Это привело к убыточности отрасли, а в результате к сокращению поголовья овец и снижению их продуктивности.

В последнее время планируется стремление к стабилизации отрасли, появляется интерес к разведению разнообразных, более продуктивных пород овец, что позволит стабилизировать и увеличить поголовье овец. Одним из основных условий, обеспечивающих увеличение производства продуктов овцеводства, наряду с улучшением кормовой базы, повышением продуктивности овец является интенсивное воспроизводство стада, использование биологических возможностей маточного поголовья, а также высокоценных производителей.

Разработка учеными метода низкотемпературной консервации биологических объектов невозможна была без глубокого познания причин и механизмов повреждения и устойчивости клеток и организмов при охлаждении и заморзании.

Была предложена теория заморзания биологических объектов в которой было теоретически дано объяснение закономерности криоанабиоза - в результате переохлаждения и заморзания воды в клетках [20].

В исследованиях [10, 11, 13, 16] установлено что, одной из причин низкой оплодотворяемости овец являются сопутствующие факторы, связанные с использованием некоторых технологических приемов и инструментария для искусственного осеменения, оказывающих отрицательное влияние на оплодотворяемость.

Установлено что, результативность искусственного осеменения овец спермой, сохраняемой в глубокозамороженном состоянии, все еще остается недостаточно высокой, а

изучение сперматозоидов, на субклеточном уровне будет способствовать разработке эффективных способов повышения живучести сперматозоидов и их оплодотворяющей способности. В исследованиях многих авторов показано, что повышение результативности искусственного осеменения овец можно добиться с помощью использования в средах различных биологически активных веществ и соединений [1, 6, 14].

Значительные структурные и биохимические повреждения сперматозоидов происходят при технологической обработке спермы, разбавлении синтетическими средами и хранении в глубоко замороженном состоянии, которые приводят к нарушению проницаемости плазматических мембран и выхода из сперматозоидов ряда компонентов клеточного метаболизма, что значительно снижает оплодотворяющую способность сперматозоидов [2, 3, 5, 15, 17, 18, 19].

**Описание ситуации в области исследований и обозначение задач.** В последние годы, основной идеей исследований служило предположение, что степень выхода клеточных ферментов из сперматозоидов зависит от их локализации и прочности связывания их со структурами сперматозоида, состава используемой среды, режимов хранения и др. Таким образом, выяснение состояния защиты в процессе хранения разбавленной спермы, позволит наметить новые пути повышения биологической полноценности сперматозоидов при долговременном хранении спермопродукции. Разрешению этой важной проблемы могут послужить сравнительные исследования особенностей сперматозоидов баранов реагировать на термодинамические процессы, а, следовательно, на образование защитных реакций и адаптационных свойств, при хранении вне организма [2, 3, 5, 15, 17].

В зоотехнии перспектива использования заморожено-оттаянной спермы открывает широкие практические возможности и, в то же время, ставит задачу более интенсивного использования ценных баранов-производителей не только в случной период, но и в другие сезоны года путём накопления от них замороженной спермы

В селекционно-племенной работе разработка более современных биотехнологических методов замораживания спермы позволит существенно повысить масштабы использования высокопродуктивных самцов в процессе воспроизводства. Данная разработка позволяет увеличить интенсивность отбора баранов-производителей, точность оценки их племенной ценности и, тем самым, увеличить эффективность селекционно-племенной работы в овцеводстве. Решение проблемы длительного хранения спермы баранов позволит хранить сперму годами и создавать нужные запасы генетического материала, а также в неограниченных размерах производить перевозки замороженной спермы баранов в целях

племенного подбора заказных спариваний, межпородных скрещиваний и выведения новых пород

Особенно в новых экономических условиях и формах ведения хозяйств, от уровня организации воспроизводства овец, зависит эффективность отрасли. Вместе с тем потенциальные возможности искусственного осеменения реализуются не полностью. Одной из главных причин такого положения является трудоемкость ряда технологических операций при проведении искусственного осеменения. Поэтому, наряду с совершенствованием биотехнологических методов воспроизводства овец, актуальное значение приобретает и создание новых эффективных технологий длительного хранения спермы баранов в замороженном состоянии

**Цель исследований.** Совершенствование методов длительного хранения спермы баранов и коррекция сперматогенеза в неслучной сезон, для улучшения результативности искусственного осеменения овец.

**Задачи исследований:**

- изучить количественные и качественные показатели спермы баранов-производителей Цигайской породы овец молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления продуктивности;
- изучить влияния препаратов ZooBioR-1 и ZooBioR-2 на коррекцию сперматогенеза баранов в неслучной сезон;
- определить эффективность введения препарата BioR в состав среды для криоконсервации (глюкозо-цитрато-желточную) как дополнительного компонента на качество оттаянной спермы баранов;
- оценить морфологические и физиологические свойства сперматозоидов в зависимости от применяемого разбавителя;
- разработать синтетическую среду для разбавления и криоконсервации спермы баранов и изучить её влияние на качество и биологическую полноценность заморожено-оттаянной спермы;
- изучить эффективность оплодотворяемости овец, осемененных заморожено-оттаянной спермой, разбавленной перед замораживанием разработанной синтетической средой.

**Гипотеза исследования** основана на том, что повышение эффективности воспроизводства овец возможно за счет применения новых биотехнологических методов, позволяющих эффективно использовать генетический потенциал высокоценных производителей. Применение биологически активных препаратов, для коррекции

сперматогенеза в неслучной период у баранов-производителей, позволили улучшить количественные и качественные показатели спермы и тем самым повысить устойчивость сперматозоидов при криоконсервации, что позволит повысить эффективность круглогодичного использования баранов-производителей и создания генетического банка спермы.

**Синтез методологии исследования и обоснование выбранных методов исследования.** Применены макроскопические, микроскопические, морфологические и кинетические методы оценки спермопродукции баранов-производителей и внедрены в процессе криоконсервации спермы с применением при искусственном осеменении овец. Одновременно оценена эффективность применения биологически активных препаратов (BioR) при замораживании спермы баранов-производителей в лабораторных и производственных условиях.

Объектами исследования были бараны-производители Цигайской породы молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления и их сперма. В лабораторных условиях, оценку качественных показателей свежеполученной спермы, а также в процессе разбавления, охлаждения, замораживания и оттаивания проводили при помощи компьютерной программы «CEROS» [9].

Биологически активные препараты BioR, ZooBioR-1 и ZooBioR-2 изготавливались Институтом микробиологии и биотехнологии технического университета.

Для подтверждения гипотезы исследований, в соответствии с поставленной целью и задачами исследований, применялись современные методы исследования. Исследовали: процент живых сперматозоидов в эякуляте, процент сперматозоидов с прямолинейно - поступательными формами движения, скорость движения сперматозоидов VAP, VSL и VCL в процессе технологической обработки спермы, используя специализированную компьютерную программу «CEROS»; динамику аномальных форм сперматозоидов; целостность акросомы сперматозоидов в процессе технологической обработки спермы; динамику изменения гормона тестостерона; морфологические и биохимические исследования крови у баранов; определяли оплодотворяемость овец осемененных заморожено-оттаянной спермой по результатам окота овец.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Во **введении** аргументированы актуальность, гипотеза исследования, синтез методологии исследования и обоснование выбранных методов исследований, изложена научная новизна полученных результатов исследований, отражена ситуация в отрасли овцеводства в стране и в мире, сформулированы цели и задачи исследований и обоснование методов исследований.

### **1. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КРИОКОНСЕРВАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ**

В данной главе проанализированы источники литературы по специальности и включает 4 раздела, в которых:

- представлены научные данные по физико-химическим основам замораживания и оттаивания биологических объектов, где показаны причины и механизмы повреждения, и их устойчивость, необходимые при разработке методов низкотемпературного консервирования биологических объектов;

- описаны методы криоповреждений сперматозоидов и метод криобиологии спермы животных, которые открыли большие возможности не только в ускорении развития и широком внедрении метода искусственного осеменения животных, а также дали возможность для сохранения генетически наиболее ценных и исчезающих пород и видов животных. В овцеводстве, согласно литературным источникам, метод криоконсервации ещё не получил широкого практического применения, данный метод связан с нестабильностью результатов осеменения, однако исследования в данном направлении являются весьма перспективными;

- освещены методы хранения спермы в глубокозамороженном состоянии, при этом отмечается, что эффективность низкотемпературного замораживания, как указано в научной литературе, в значительной степени зависит от использования синтетических защитных сред, которые должны содержать неэлектролиты, электролиты, фосфолипиды, антиоксиданты, криопротекторы, биологически активные соединения и другие вещества, которые призваны обеспечить биологическую полноценность сперматозоидов в процессе их технологической обработки;

- изложены методы устойчивости сперматозоидов к влиянию различных факторов, таких как: защитное действие яичного желтка куриных яиц от холодового удара



сперматозоидов при охлаждении спермы, криозащитное действие глицерина, вводимого в состав криозащитных сред и влияние процесса замораживания – оттаивания на сохранение биологической полноценности сперматозоидов.

В результате анализа научной литературы по специальности была аргументирована важность внедрения в отрасль овцеводства метода искусственного осеменения с использованием замороженного при  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  семени, полученного от баранов-производителей в течении всего года.

## **2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ BioR, ZooBioR-1 и ZooBioR-2 НА КРИОКОНСЕРВАЦИЮ СПЕРМЫ БАРАНА**

Глава представляет схему научных исследований, объекты и методы исследований, используемые при выполнении научных изысканий по теме диссертации.

В качестве основных биологических объектов исследований были использованы бараны-производители Цыгайской породы молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления в возрасте 2 - 4 лет и сперма, полученная от них с использованием искусственной вагины, а также препараты BioR, ZooBioR-1 и ZooBioR-2, разработанные в Институте микробиологии и биотехнологии Технического университета.

Выявление эффективности препарата BioR, вводимого в состав синтетической среды ГЦЖ, как дополнительный компонент, на качество заморожено - оттаянной спермы проводили в лаборатории «Биотехнологии воспроизводства и трансплантации эмбрионов» Научно-Практического Института Биотехнологии в Зоотехнии и Ветеринарной Медицины с применением компьютерной программы «CEROS».

Определение эффективности препаратов ZooBioR-1 и ZooBioR-2 на коррекцию сперматогенеза у баранов в неслучной сезон проводили на овцеводческой ферме STE “Махітовса” с использованием баранов-производителей Цыгайской породы молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления. Полученные данные позволили применить предлагаемые препараты ZooBioR-1 и ZooBioR-2 для стимуляции и коррекции сперматогенеза у баранов в неслучной сезон с целью получения, оценки и замораживания спермы для хранения в спермобанке лаборатории «Биотехнологии воспроизводства и трансплантации эмбрионов». ZooBioR-1 — комплексный природный препарат, состоящий из комбинации экстрактов биологически активных соединений. Препарат содержит свободные аминокислоты и олигопептиды (4,5-10%), белки (45-50%), полисахариды, в том числе

сульфатированные (15-20%), цинк (2,5-5 мг). ZooBioR-2 — натуральный комплексный препарат, состоящий из комбинации экстрактов биологически активных соединений. Препарат содержит свободные аминокислоты и олигопептиды (4,5-10%), белки (45-50%), полисахариды, в том числе сульфатированные (15-20%), фосфолипиды (до 0,25%), селен (25-50 мкг).

Биохимические и гематологические исследования проб крови подопытных баранов выполняли в лаборатории «Биотехнологии воспроизводства и трансплантации эмбрионов» Научно-Практического Института Биотехнологии в Зоотехнии и Ветеринарной Медицины, с использованием биохимического анализатора Stat FAX.

Разработку синтетической среды для замораживания спермы баранов-производителей с применением препарата BioR, вводимого в качестве как дополнительного компонента в состав синтетической среды ГЦЖ, в концентрации от 0,1 до 1,0 % выполняли в условиях лаборатории «Биотехнологии воспроизводства и трансплантации эмбрионов» Научно-Практического Института Биотехнологии в Зоотехнии и Ветеринарной Медицины.

BioR — комплексный биологический препарат, полученный из биомассы цианобактерии *Spirulina platensis*. Содержит незаменимые и заменимые аминокислоты, в том числе иммуноактивные аминокислоты (валин, триптофан, треонин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аланин, аргинин, цистеин, глицин, серин, гамма-аминомасляная кислота), сульфатированные полисахариды, полиненасыщенные жирные кислоты, в т.ч. гамма-линоленовая кислота, основные макро- и микроэлементы.

BioR обладает следующими свойствами: антиоксидантные, цитопротекторные, регенеративные, иммуномодулирующие. BioR способствует стабилизации клеточных и лизосомальных мембран, нормализации и поддержанию на оптимальном уровне баланс между системами перекисного окисления липидов и антиоксидантными системами, повышению антиоксидантного потенциала ферментативных и неферментативных цепей: повышает уровень ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, глутатиона, восстанавливает содержание восстановленного глутатиона, токоферола и др.

Оценку качественных показателей спермы баранов-производителей проводили согласно ГОСТУ 32277-2013 для передачи на хранение в спермобанке лаборатории «Биотехнологии воспроизводства и трансплантации эмбрионов».

### 3. ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА СПЕРМОПРОДУКЦИЮ

#### 3.1. Оценка свежеполученной спермы баранов-производителей Цигайской породы молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления

Известно, что в селекционно-племенной работе большая роль отводится баранам-производителям. Это обусловлено их влиянием на генетический прогресс породы. Особую актуальность это положение приобретает при широком использовании метода искусственного осеменения.

Таким образом, большой объем спермы с высокой концентрацией сперматозоидов в эякуляте у баранов позволяют получить от них большее количество сперматозоидов из одного эякулята при разбавлении и замораживании. Это, в свою очередь, позволяет максимально использовать высококачественных баранов-производителей и осеменить большее количество овцематок, следовательно, получить большее количество потомков от высокоценного барана.

Опыт был проведен в условиях овцеводческой фермы СТЕ «Максимовка» согласно схеме опыта, представленной на рис. 3.1.



Рис. 3.1. Схема опыта №1. Показатели спермопродукции баранов-производителей

Качественные и количественные показатели спермопродукции баранов-производителей представлены в таблице 3.1.

**Таблица 3.1. Показатели спермопродукции баранов-производителей в случной сезон (n=40 эякулятов)**

Характеристика эякулята	Ед. измерения	Статистические показатели				
		M±m	σ	Cv%	Vmin	Vmax
Объем	мл	1,25±0,06	0,40	31,99	0,8	2,0
Подвижные сперматозоиды	%	83,1±1,2	7,58	9,13	64,0	98,0
Прямолинейно поступательные	%	40,5±1,0	6,16	15,22	29,0	55,0
Концентрация сперматозоидов	млрд/мл	2,19±0,07	0,44	20,24	1,15	2,94
Количество сперматозоидов в эякуляте	млрд.	2,74±0,17	1,1	40,17	1,34	5,36
Целостность акросомы	%	97,77±0,33	1,27	1,30	95,5	99,5

Средний объем эякулята у баранов-производителей составил 1,25±0,06 мл с индивидуальными колебаниями от 0,8 мл до 2,0 мл. Предел изменчивости среди баранов по концентрации сперматозоидов составил 1,15-2,94 млрд/мл, со средним показателем 2,19±0,07 млрд/мл. Указанные показатели находятся в пределах физиологической нормы.

Качество спермопродукции и, в конечном итоге, оплодотворяющую способность спермы, во многом определяет подвижность сперматозоидов. В наших исследованиях подвижность сперматозоидов составила в среднем 83,1±1,2%, с колебаниями в пределах от 64,0 до 98,0 %, что соответствует стандарту породы.

Анализ спермопродукции баранов-производителей показал, что общее количество сперматозоидов в эякуляте составило 2,74±0,17 млрд, с колебаниями от 1,34 до 5,36 млрд сперматозоидов.

Процент сперматозоидов с неповрежденной акросомой в эякуляте составил 97,77±0,33% с колебаниями от 95,5 до 99,5 %.

Результаты экспериментальных данных по определению сперматозоидов с аномальной морфологией в сперме баранов-производителей представлены в таблице 3.2.

**Таблица 3.2. Аномалии сперматозоидов (n=22), %**

Показатели	Статистические показатели				
	M±m	σ	Cv%	Vmin	Vmax
Головка	1,70±0,19	0,72	42,460	0,5	3,5
Шея	2,77±0,19	0,75	26,978	1,5	4,0
Хвост	3,68±0,23	0,90	24,329	2,0	5,5

Наименьшее число аномалий было установлено у головки сперматозоидов  $1,70 \pm 0,19$ , с колебаниями от 0,5 до 3,5%, а наибольшее количество сперматозоидов с аномалиями обнаружены в области хвоста ( $3,68 \pm 0,23$ , колебания от 2,0 до 5,5%) и в области шеи ( $2,77 \pm 0,19$  с колебаниями от 1,5 до 4,0%).

Полученные экспериментальные результаты соответствуют требованиям, предусмотренным межгосударственным стандартом (ГОСТ 32200-2013), где указано, что количество сперматозоидов с аномальной морфологией в сперме баранов-производителей не должно превышать 18%.

Нами также была изучена скорость движения сперматозоидов в эякулятах баранов-производителей (таблица 3.3).

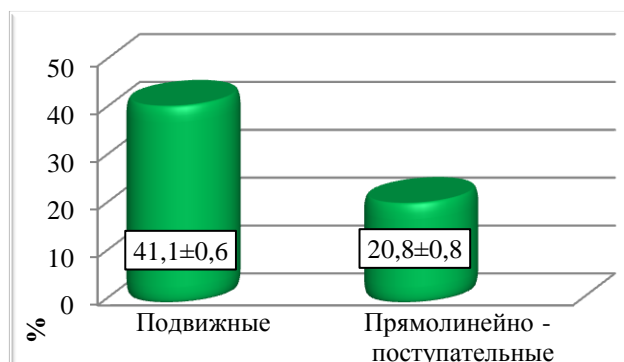
**Таблица 3.3. Скорость движения сперматозоидов (n=40),  $\mu\text{m/s}$**

Показатели	Статистические показатели				
	M $\pm$ m	$\sigma$	Cv%	Vmin	Vmax
VAP	119,0 $\pm$ 2,7	17,33	14,57	90,0	171,7
VSL	95,6 $\pm$ 2,52	15,95	16,69	70,3	121,3
VCL	176,4 $\pm$ 4,02	25,41	14,41	136,8	229,1

Изучая скорость движения VAP, показатель, который измеряет среднюю скорость движения головки по усредненной траектории наблюдения, было установлено, что этот показатель был равен  $119,0 \pm 2,7$  с колебаниями от 90,0 до 171,7  $\mu\text{m/s}$ .

Измеряя показатели движения сперматозоидов VSL - усредненная по времени скорость движения сперматозоида вдоль линии, проведенной между начальной и конечной точкой траектории, установили, что был равен  $95,6 \pm 2,52$  с колебаниями от 70,3 до 121,3  $\mu\text{m/s}$ .

Измеряя скорость движения сперматозоидов VCL, который измеряет расстояние, и скорость передвижения по всей траектории, установили, что данный показатель был равен  $176,4 \pm 4,02$  с колебаниями от 136,8 до 229,1  $\mu\text{m/s}$ .



**Рис. 3.2. Качественные показатели заморожено-оттаянной спермы (n=40), %**

Проведены также исследования по изучению криоустойчивости спермы полученной от баранов-производителей Цигайской породы молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления (рис.3.2).

При исследовании заморожено-оттаянной спермы были получены сравнительно хорошие результаты качества оттаянной спермы. Подвижность сперматозоидов составила  $41,1 \pm 0,6\%$ , а число сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением  $20,8 \pm 0,8\%$ .

### 3.2. Круглогодичное использование высокопродуктивных баранов-производителей

Эксперимент 2 был выполнен согласно схеме опыта №1 (рис. 3.1). Разработка метода длительного сохранения спермы барана в замороженном виде открывает перспективу круглогодичного накопления биологически полноценной спермы баранов-производителей с тем, чтобы во время сезонного проявления овцами половых рефлексов располагать нужными запасами спермы высокоценных баранов-улучшателей.

В этих целях проводили исследования по разработке метода использования высокоценных баранов-производителей вне сезона размножения, и изучению биологической полноценности спермы. Данные по характеристике нативной спермы представлены в таблице 3.4.

**Таблица 3.4. Характеристика спермы в неслучной сезон (n=25)**

Характеристика эякулята	Ед. измерения	Статистические показатели			
		M±m	Cv%	Vmin	Vmax
Объем	мл	1,23±0,33	27,09	0,6	1,5
Подвижные сперматозоиды	%	66,24±19,2	19,9	50,0	85,0
Концентрация сперматозоидов	млрд/мл	1,33±0,54	35,85	0,630	1,65
Количество сперматозоидов в эякуляте	млрд.	1,64±0,3	14,53	0,720	2,01

В проведенных опытах было установлено, что в неслучной сезон подвижность сперматозоидов в среднем была  $66,24 \pm 19,2\%$ . Концентрация сперматозоидов составила  $1,33 \pm 0,54$  млрд/мл. Объем полученных эякулятов составил в среднем  $1,23 \pm 0,33$  мл с диапазоном колебаний от 0,6 до 1,5 мл. Общее количество сперматозоидов в эякуляте составило 1,64 млрд с колебаниями от 0,72 до 2,01 млрд.

В другой серии опытов изучали уровень спермопродукции баранов-производителей в случной сезон. Результаты исследований представлены в таблице 3.5.

**Таблица 3.5. Характеристика спермы в случной сезон (n=25)**

Характеристика эякулята	Ед. измерения	Статистические показатели			
		M±m	Cv%	Vmin	Vmax
Объем	мл	1,38±0,40	18,01	0,9	1,52
Подвижные сперматозоиды	%	81,17±1,60	18,31	73,0	98,0
Концентрация сперматозоидов	млрд/мл	1,47±0,10	32,81	0,683	2,313
Количество сперматозоидов в эякуляте	млрд.	2,03±0,09	25,97	0,769	2,035

Полученные экспериментальные данные показывают, что объём эякулята у баранов в случной сезон составил в среднем  $1,38 \pm 0,40$  мл с колебаниями от 0,9 до 1,52 мл. Этот показатель выше на 0,15 мл по сравнению с объёмом эякулята в неслучной сезон. Подвижность сперматозоидов составила в среднем  $81,17 \pm 1,60\%$  с колебаниями от 73,0 до 98,0%, что на 14,53% выше показателя неслучного сезона. Концентрация сперматозоидов в эякуляте была выше на 0,14 млрд/мл, а общее количество сперматозоидов в эякуляте составило  $2,03 \pm 0,09$  млрд или на 0,39 млрд больше чем аналогичный показатель в неслучной сезон. Таким образом, результаты четырёхлетних экспериментов свидетельствуют о том, что качественные и количественные показатели спермы, такие как подвижность, объём, концентрация, несмотря на определенную тенденцию к снижению в неслучной сезон, остаются на достаточно высоком уровне и отвечают минимальным требованиям.

В специальных опытах изучали уровень повреждений акросомы сперматозоидов в разные периоды. Экспериментальные данные представлены в таблице 3.6.

**Таблица 3.6. Процент сохранности акросомы в неслучной сезон (n=25)**

Показатели, %	Статистические показатели			
	M±m	Cv%	Vmin	Vmax
Случной сезон	2,3±0,3	55,33	1,0	5,0
Неслучной сезон	2,8±0,4	59,15	1,0	7,0

В результате изучения биологической полноценности спермы баранов-производителей в зависимости от сезона установлено, что в неслучной сезон процент сперматозоидов с поврежденной акросомой составил  $2,8 \pm 0,4\%$ , тогда как в случной сезон этот показатель был на 0,5% ниже. Известно, что содержащиеся в акросоме ферменты освобождаются и способствуют перфорации лучистого венца яйцеклеток, благодаря чему в нее проникает сперматозоид [12], что играет важную роль в эффективности искусственного осеменения овец.

Собственные исследования и анализ литературных источников по данной проблеме выявил заметное расхождение между показателями процента аномальных сперматозоидов в

неслучной и случайной сезоны размножения. Полученные нами данные представлены в таблице 3.7.

**Таблица 3.7. Аномалии сперматозоидов в зависимости от сезона размножения (n=25)**

Показатели, %	случной сезон	неслучной сезон
Головка	4,2±0,3	5,4±0,3
Шея	4,2±0,4	4,4±0,2
Хвост	4,0±0,3	4,0±0,2
Всего	12,4	13,8

Представленные в таблице 3.7 данные показывают, что в неслучной сезон количество сперматозоидов с аномалиями находилось в пределах 13,8%, а в случайной сезон 12,4%. Самый высокий процент сперматозоидов с аномалиями был установлен на уровне головки сперматозоида в неслучной сезон 5,4±0,3%.

В лабораторных опытах основное внимание было уделено изучению устойчивости сперматозоидов, полученных в неслучной сезон года, при их замораживании-оттаивании.

Кроме этого изучали различные параметры качества оттаянных сперматозоидов в разные сезоны года. Данные представлены в таблице 3.8.

**Таблица 3.8. Качественные показатели спермы после замораживания-оттаивания (n=17)**

Параметры		Неслучной сезон	Случной сезон
Подвижные, %		36,8±1,7	48,8±1,5***
Прогрессивные, %		14,7±1,1	24,2±1,2***
Скорость движения, $\mu\text{m/s}$	VAP	78,1±3,2	84,4±4,3
	VSL	65,7±3,4	69,1±2,5
	VCL	112,1±3,0	125,5±5,4*

\* $P \leq 0,05$ ; \*\*\* $P \leq 0,001$

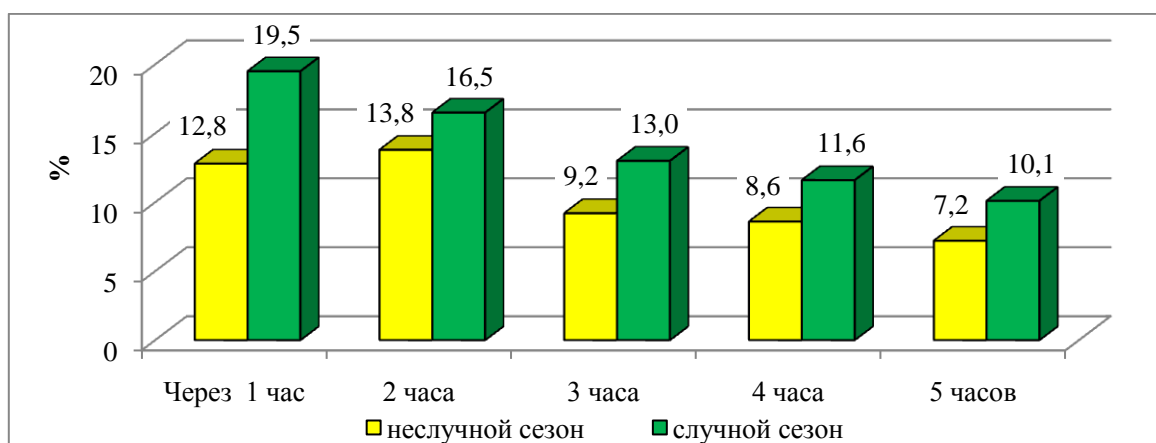
Установлено, что в неслучной сезон, подвижность сперматозоидов после криоконсервации была ниже на 6% по сравнению со случайным сезоном ( $P \leq 0,001$ ). Также были установлены различия в количестве живых сперматозоидов с прямолинейно-поступательными движениями, именно те сперматозоиды, которые непосредственно участвуют в оплодотворении яйцеклетки. Их количество в случайной сезон, после замораживания-оттаивания спермы составило  $24,2 \pm 1,2\%$ , тогда как в неслучной сезон этот показатель был на уровне  $14,7 \pm 1,1$  или на 9,5% меньше ( $P \leq 0,001$ ).

В своих опытах мы исходили из классического принципа, что скорость движения сперматозоидов имеет большое значение по времени их достижения места, где происходит оплодотворение яйцеклетки, т.е. верхней трети яйцевода.



Установлено, что скорость движения сперматозоидов (VAP, VSL, VCL) в случной сезон выше, по сравнению с такими же показателями неслучного сезона.

Кроме основного назначения, метод искусственного осеменения имеет ряд основных требований к качеству заморожено-оттаянной спермы и, особенно, к количеству сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, которые непосредственно участвуют в процессе оплодотворения яйцеклеток. Показатели количества сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением после оттаивания представлены на рисунке 3.3.



**Рис. 3.3. Динамика количества сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением после замораживания-оттаивания (n=17), %**

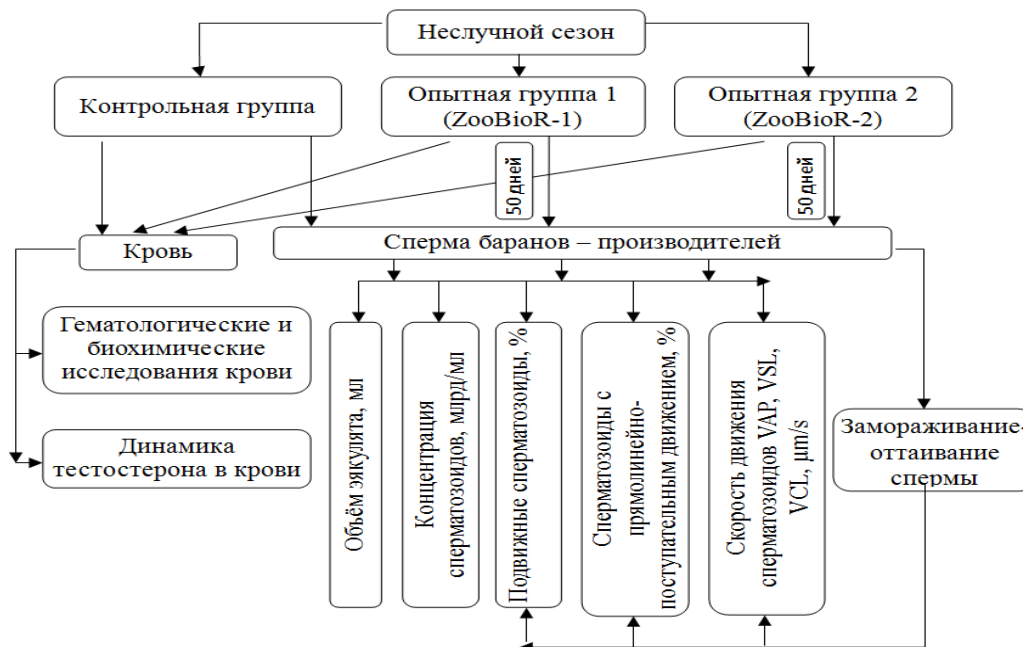
Процент сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением в случной сезон, через 1 час после оттаивания составил 19,5%, тогда как в неслучной этот показатель был равен 12,8% или на 6,7% меньше. После 5 часов инкубации, при температуре +37 °C соответствовал 10,1% в случной сезон, а в неслучной сезон этот показатель был на уровне 7,2%.

Эти результаты, полученные в опытах, побудили заняться выяснением конкретных причин такого резкого снижения процента выживаемости сперматозоидов баранов в зависимости от сезона размножения.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что для эффективного круглогодичного использования высокоценных баранов-производителей необходимо научно обосновать и разработать более совершенные методы эффективного использования генофонда высокоценных производителей для ускорения темпов повышения племенных и продуктивных качеств овец, разводимых в Республике Молдова.

### 3.3. Влияние ZooBioR-1 и ZooBioR-2 на воспроизводительные качества баранов-производителей

Для выполнения данного опыта исследования проводили на баранах - производителей, содержащихся на овцеферме СТЕ «Максимовка» согласно схеме №2.

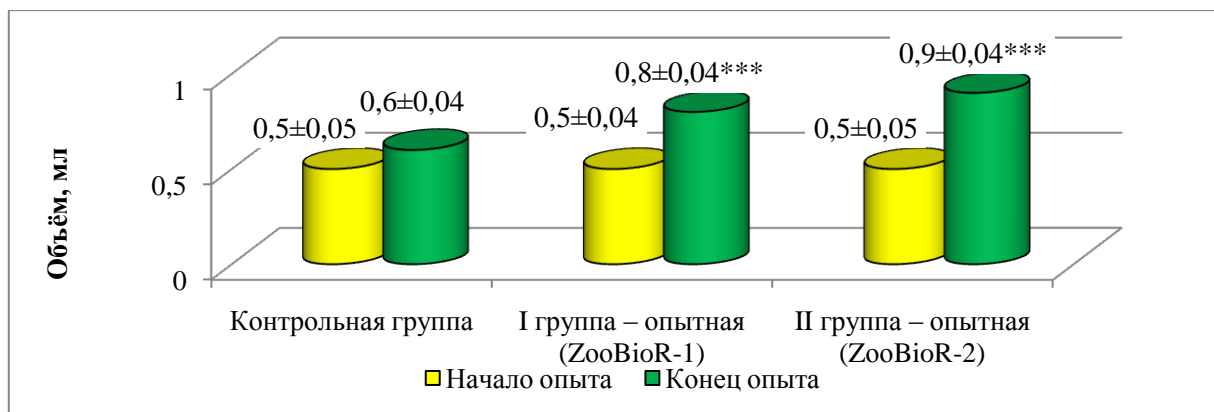


**Рис. 3.4. Схема опыта № 2. Влияние препарата ZooBioR-1 и ZooBioR-2 на коррекцию сперматогенеза баранов-производителей в неслучной сезон**

Одной из наших целей, при выполнении данного раздела работы, являлось определение эффекта биологически активных препаратов природного происхождения [7], ZooBioR-1 и ZooBioR-2, на репродуктивную функцию у баранов-производителей вне сезона размножения.

Были подобраны взрослые бараны-производители в возрасте от 2-х до 4-х лет. Сперму получали от каждого барана два раза в неделю. Баранам-производителям, к основному рациону, добавляли по 5 г/голову ZooBioR-1 и также по 5 г/голову ZooBioR-2 в течение 50 дней. Определяли: объем, подвижность и концентрацию сперматозоидов по общепринятым методикам. Устойчивость спермы к замораживанию изучали путем определения подвижности сперматозоидов после оттаивания.

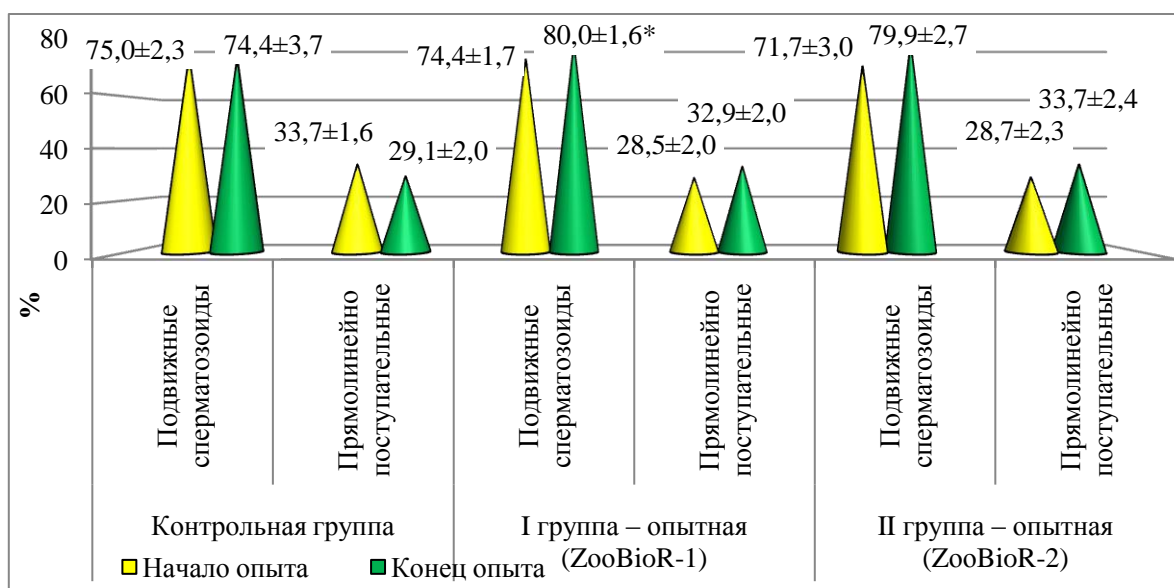
Данные по изучению влияния ZooBioR-1 и ZooBioR-2 на количественные показатели спермы баранов-производителей в начале и в конце опыта показаны на рисунке 3.5.



**Рис 3.5. Объёма эякулята баранов-производителей в начале и в конце опыта (n=24), мл**

Объем эякулята в контрольной и опытных группах в начале опыта был сравнительно одинаковым ( $0,5 \pm 0,05$  мл). После 50 дней опыта, объем эякулята в контрольной группе стал выше на ( $0,1$  мл) статистически недостоверную разницу. В первой опытной группе, где баранам на протяжении 50 дней к основному рациону давали по 5 г ZooBioR-1, объем эякулята в неслучной сезон составил  $0,8 \pm 0,04$  ( $P \leq 0,001$ ), а во второй опытной группе, бараны-производители, которые получали дополнительно к основному рациону также по 5 г ZooBioR-2, объем эякулята повысился в конце опыта на достоверную разницу и составил  $0,9 \pm 0,04$  мл ( $P \leq 0,001$ ) (рис. 3.5).

За период проведения опыта была изучена подвижность сперматозоидов. Данные по изучению динамики изменения подвижности сперматозоидов в неслучной сезон в зависимости от применения биологически активных препаратов (ZooBioR-1 и ZooBioR-2) представлены на рисунке 3.6.

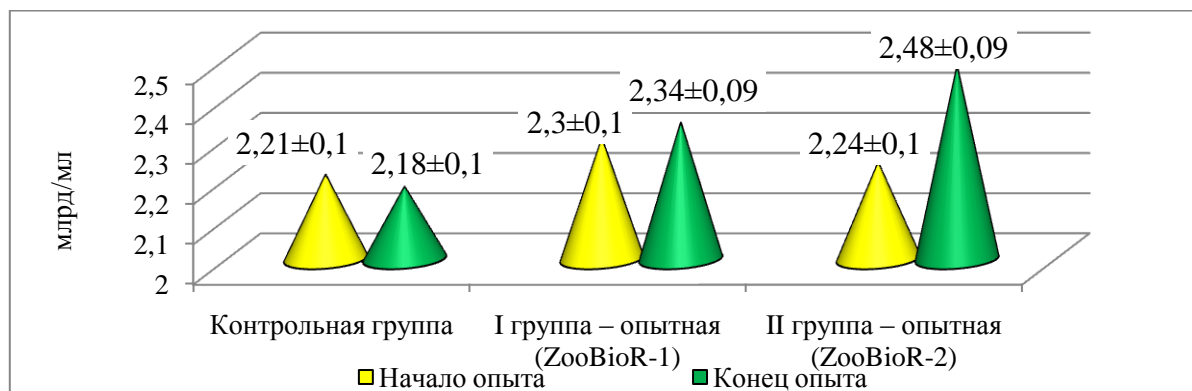


**Рис. 3.6. Процент подвижных и прямолинейно-поступательных сперматозоидов в начале и в конце опыта (n=24), %**

Исходя из полученных результатов, представленных на рисунке 3.6, средний процент подвижности сперматозоидов баранов-производителей в конце опыта в первой опытной группе увеличился до  $80,0 \pm 1,6\%$ , где разница статистически достоверна и до  $79,9 \pm 2,7\%$  во второй опытной группе, разница статистически недостоверна.

Процент прямолинейно-поступательных сперматозоидов в конце опыта увеличился в первой опытной группе до  $32,9 \pm 2,0$ , во второй группе опыта до  $33,7 \pm 2,4$ , где разница в обеих группах недостоверна.

Экспериментальные данные по изучению динамики изменения концентрации сперматозоидов в сперме баранов-производителей в период проведения опыта показаны на рисунке 3.7.



**Рис. 3.7. Концентрация сперматозоидов в сперме в начале и в конце опыта (n=24), млрд/мл**

Анализируя показатели, представленные на рисунке 3.7, можно сделать вывод, что среднее значение концентрации сперматозоидов в эякуляте баранов-производителей опытных групп, при применении ZooBioR-1 и ZooBioR-2, составило 2,34 млрд/мл в первой опытной группе и 2,48 млрд/мл во второй опытной группе, через 50 дней кормления. В контрольной группе концентрация сперматозоидов в эякуляте осталась практически неизменной.

Следует отметить, что используемые препараты повлияли положительно на сперматогенез у баранов в неслучной сезон.

Изучали эффективность использования племенных баранов-производителей на протяжении всего года, путем накопления и хранения спермы в замороженном состоянии ( $-196 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ). В результате исследований, экспериментальным путем выявлено влияние биологически активных препаратов ZooBioR-1 и ZooBioR-2 на качественные показатели

спермы и пригодность ее к замораживанию. На рисунке 3.8 представлены данные количества подвижных сперматозоидов в образцах замороженной спермы.



**Рис. 3.8. Процент подвижных сперматозоидов после оттаивания в начале и в конце опыта, (n=24), %**

Процент живых сперматозоидов, в пробах размороженной спермы при +40-42 °С, в первой группе животных возрос на 3,5 процентных пункта за период проведения опыта по сравнению с предшествующим периодом (46,7±3,2% против 50,2±1,5%).

Во второй опытной группе процент живых сперматозоидов вырос на 6,5% процентных пункта за период проведения опыта по сравнению с предшествующим периодом, т. е. с 45,3±4,8% до 51,8±2,4%.

В контрольной группе подвижность сперматозоидов за период опыта снизилась на 8,1% или с 44,7±1,5 до 36,6±3,0%.

Было изучено влияние препаратов ZooBioR-1 и ZooBioR-2, введенного в состав основного рациона, на уровень тестостерона в крови баранов-производителей. В начале и в конце опыта от всех баранов были отобраны пробы крови для определения уровня тестостерона. Содержание тестостерона определяли методом ELISA.

Материалы, отражающие основные результаты исследования тестостерона в крови приведены в таблице 3.9.

**Таблица 3.9. Количество тестостерона в крови баранов-производителей опытных групп**

Показатели	Контрольная группа		I группа – опытная (ZooBioR-1)		II группа – опытная (ZooBioR-2)	
	Начало	Конец	Начало	Конец	Начало	Конец
Тестостерон (ng/ml)	4,2±0,2	4,2±0,3	4,0±0,1	5,2±0,4*	4,3±0,4	6,0±0,1*

\*P≤0,05

Концентрация тестостерона в крови за период проведения опыта от начала к концу эксперимента возросла и составила в среднем для первой опытной группы  $5,2 \pm 0,4$  ng/ml и во второй опытной группе  $6,0 \pm 0,1$  ng/ml. Общее количество тестостерона в крови у баранов-производителей контрольной группы было в среднем  $4,2 \pm 0,3$  ng/ml.

Исходя из полученных результатов, можно отметить, что применение препарата ZooBioR-1 и ZooBioR-2 оказывает положительное влияние на качество спермопродукции, получаемой от баранов-производителей в неслучной сезон.

Данное исследование послужило основанием для подачи заявки на патентное изобретение. Впоследствии был получен патент № 1460.

#### 4. КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ И ИХ ОПЛАДОТВОРЯЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ

##### 4.1. Изучение защитного влияния препарата BioR входящего в состав среды для разбавления и замораживания спермы баранов

Опыты по данному разделу проводились на сперме баранов-производителей в условиях лаборатории «Биотехнологии воспроизводства и трансплантации эмбрионов» Научно-Практического Института Биотехнологии в Зоотехнии и Ветеринарной Медицины согласно схемы представленной на рисунке 4.1

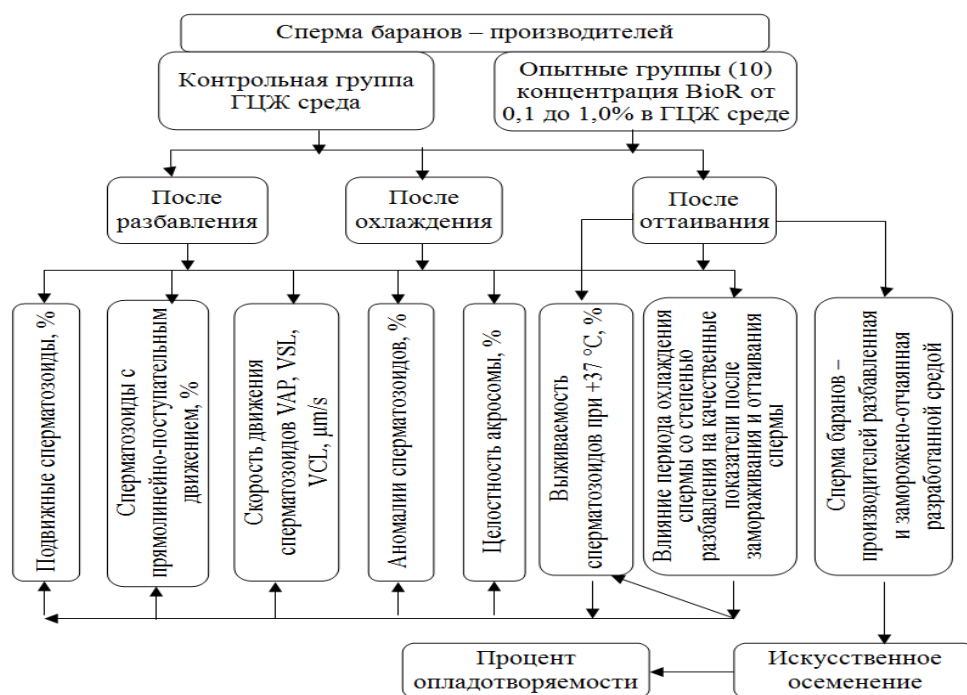


Рис. 4.1. Схема опыта № 3. Влияние препарата BioR на криорезистентность сперматозоидов при замораживании

В последние годы проводятся интенсивные исследования по совершенствованию синтетических сред для длительного хранения спермы баранов-производителей с целью повышения ее биологической полноценности и оплодотворяющей способности. Было исследовано защитное влияние препарата BioR, синтезированного в Институте микробиологии и биотехнологии, который обладает антиоксидантным действием, стабилизирует клеточные и лизосомные мембраны [8]. В наших опытах, препарат вводили в состав синтетической среды ГЦЖ, как дополнительный компонент, от 0,1 до 1,0 %/V.

Динамика подвижности сперматозоидов в процессе технологической обработки спермы с применением для разбавления среды ГЦЖ, в состав которой был введен препарат BioR, представлены в таблице 4.1.

Представленные в таблице 4.1 результаты свидетельствуют, что после разбавления спермы средой ГЦЖ, в состав которой дополнительно вводили препарат BioR в концентрации от 0,1 до 1,0 %/V, подвижность сперматозоидов как в контрольной группе, так и в опытных группах была практически одинакова от 83,7±6,4% до 92,3±1,9%, а препарат BioR не является токсичным для сперматозоидов в пределах испытываемых концентраций. Самые высокие показатели подвижности сперматозоидов, после замораживания-оттаивания, получены в группе, где сперму разбавляли ГЦЖ-средой в состав которой дополнительно вводили 0,6% BioR - 62,0±2,9 (P≤0,01).

**Таблица 4.1. Влияние препарата BioR на показатели подвижности сперматозоидов, (n=12), %**

Параметры		После разбавления	После охлаждения	После оттаивания	
Контроль ГЦЖ		88,7±2,8	83,0±3,5	30,5±4,5	
Опытные группы	1	0,1	85,3±5,2	81,3±9,3	47,0±15,0
	2	0,2	88,0±1,7	85,3±5,2	49,0±5,5
	3	0,3	84,0±9,5	84,3±6,8	36,3±9,1
	4	0,4	92,3±1,9	87,7±4,5	41,0±5,0
	5	0,5	83,7±6,4	84,3±7,2	48,0±7,0
	6	0,6	88,7±3,7	84,3±7,2	62,0±2,9**
	7	0,7	91,0±1,7	89,7±1,8	55,0±8,0
	8	0,8	85,0±5,6	85,7±5,9	53,3±4,5*
	9	0,9	90,7±1,8	87,0±4,5	57,0±8,0
	10	1,0	87,3±8,2	83,0±6,0	60,0±2,6*

\*P≤0,05; \*\*P≤0,01 (по сравнению с контролем).

Было изучено влияние препарата BioR, вводимого как дополнительный компонент в среду ГЦЖ, на выживаемость сперматозоидов после оттаивания при +37 °С. Экспериментальные данные и полученные результаты представлены в таблице 4.2.

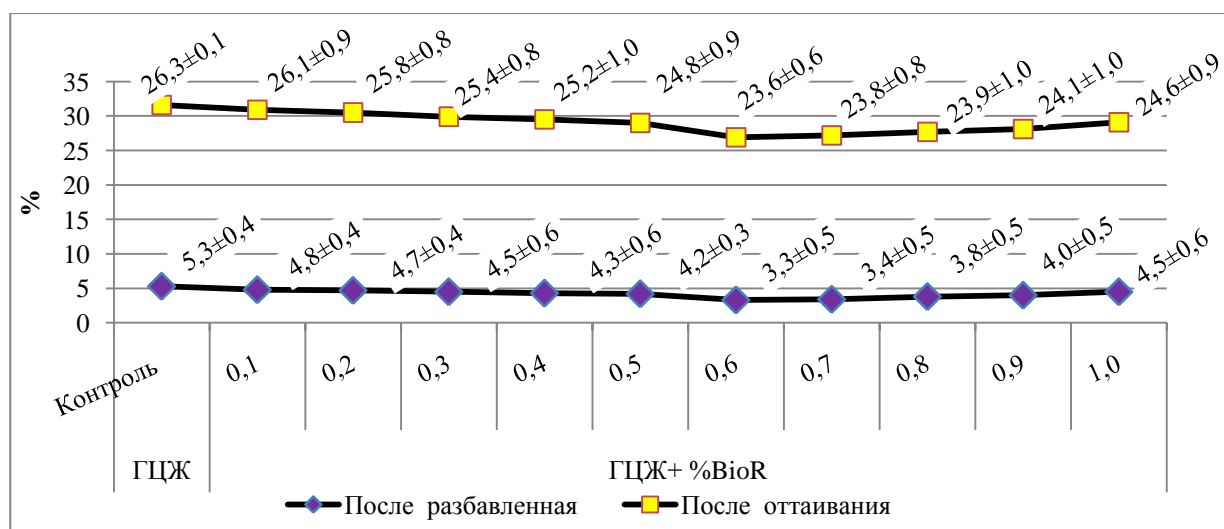
**Таблица 4.2. Влияние препарата BioR на динамику выживаемости сперматозоидов после оттаивания (n=12), %**

Параметры		После оттаивания	Подвижность через:					
			1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часов	
Контроль ГЦЖ		30,5±4,5	29,0±3,2	25,5±1,3	24,7±2,6	118,0±1,5	15,3±1,9	
Опытные группы	Концентрация BioR (%) в среде ГЦЖ	0,1	47,0±15,0	38,5±6,8	42,0±4,7	36,0±4,5	20,7±4,8	20,0±4,5
		0,2	49,0±5,5	42,8±2,8	40,8±2,3	40,0±3,0	26,0±3,1	19,3±1,8
		0,3	36,3±9,1	33,0±3,1	33,3±3,0	33,0±4,5	32,7±4,2	29,0±3,1
		0,4	41,0±5,0	39,5±3,9	38,5±3,4	37,0±6,9	33,0±6,0	29,7±4,3
		0,5	48,0±7,0	40,5±3,9	39,8±4,1	36,7±0,9*	34,3±2,0*	25,3±2,7
		0,6	62,0±2,9**	51,0±2,6*	48,8±2,1*	45,0±2,1*	41,7±2,7*	31,3±3,0*
		0,7	55,0±8,0	48,5±2,6*	46,3±3,4*	46,0±6,1	40,7±5,4	28,0±1,5*
		0,8	53,3±4,5*	48,3±3,1	46,5±3,0*	45,7±5,2	38,0±4,5	27,0±4,2
		0,9	57,0±8,0	50,0±4,9*	48,0±2,9*	41,3±0,7*	28,3±2,7	25,3±2,9
		1,0	60,0±2,6*	53,3±1,4*	47,3±2,6*	40,7±1,2*	39,7±7,9	28,7±7,9

\*P<0,5; \*\*P<0,01 (по сравнению с контролем)

При сохранение оттаянной спермы при температуре +37 °С происходит постепенное снижение ее активности. Так, после 5 часов хранения при температуре +37°С в 6 и 7 вариантах опыта, подвижность сперматозоидов, сохранилась выше на достоверную разницу (P<0,5) по сравнению с контролем.

Используя метод оценки акросомы, выявлено, что в оттаянной сперме значительное число сперматозоидов имеют различные степени структурных повреждений, характеризующихся набуханием, отслоением и разрывами поверхностных мембран, особенно в области акросомы [4]. Экспериментальные данные по влиянию сохранности целостности акросомы в процессе технологической обработки приведены на рисунке 4.2.

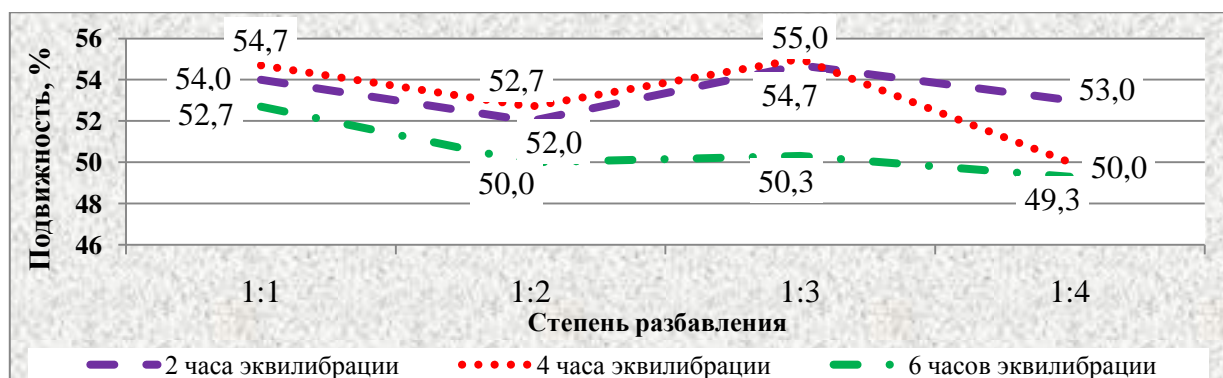


**Рис. 4.2. Влияние BioR на динамику сохранности акросомы (n=12), %**



Полученные нами результаты доказывают, что существенные структурные повреждения в сперматозоидах наступают уже в процессе технологической обработки, то есть перед замораживанием. Так, если в свежеразбавленной сперме лишь до 5% сперматозоидов имели те или иные нарушения биомембраны, то после разбавления этот показатель несколько увеличился, а после замораживания-оттаивания увеличился до 24-26% сперматозоидов. Следует отметить, что относительно лучше сохранялась целостность акросомы, на ранних этапах технологической обработки спермы, когда в состав ГЦЖ среды вводили дополнительно 0,6-0,7% препарата BioR ( $23,6 \pm 0,6 - 23,8 \pm 0,8\%$  соответственно).

Нами также был проведен опыт, в котором выясняли влияние периода эквilibрации при температуре  $+2-+4$  °C на качественные показатели после замораживания и оттаивания спермы. Экспериментальные данные по изучению продолжительности периода эквilibрации семени, разбавленной средой ГЦЖ с препаратом BioR в разных концентрациях и при разных степенях разбавления представлены на рисунке 4.3.



**Рис. 4.3. Подвижность сперматозоидов после замораживания-оттаивания в зависимости от степени разбавления и времени эквilibрации (n=12), %**

Представленные результаты свидетельствуют о том, что при охлаждении спермы, в течение 6 часов перед замораживанием, были получены самые низкие показатели подвижности сперматозоидов после замораживания-оттаивания, независимо от степени разбавления спермы. Самые высокие показатели подвижности сперматозоидов после замораживания-оттаивания были получены при степени разбавления 1:3 и периодом охлаждения перед замораживанием в 4 и 2 часа. На основании полученных данных можно сделать вывод, что период эквilibрации спермы, разбавленной ГЦЖ средой в состав которой, как дополнительный компонент добавлен препарат BioR в количестве 0,6 - 0,7%, можно сократить до 2-х часов, без потери процента подвижности сперматозоидов, по сравнению с классической технологией замораживания спермы, где период охлаждения длится 6 часов.

На основании полученных результатов исследований по совершенствованию технологии криоконсервации спермы была разработана новая синтетическая среда для разбавления и замораживания спермы баранов-производителей со следующим состав: глюкоза - 0,8 г, цитрат натрия - 2,8 г, желток куриного яйца - 20 %/V, глицерин - 7 %/V, антибиотики (Спермосан-3) - 50 тыс. ед., BioR (5 мг/мл) - 0,6 %/V, вода дистиллированная - до 100 мл., на данную среду был получен патент на изобретение № 4513.

За период 2016 – 2022 гг. данной синтетической средой было заморожено и передано на хранение в генетический банк 2403 дозы спермы, полученных от ценных баранов-производителей, пригодных для искусственного осеменения овец.

Производственные опыты по проверке оплодотворяющей способности спермы баранов-производителей, замороженной в ГЦЖ среде, с добавлением дополнительного компонента BioR, проводили в STE „Maximovca” Ново-Аненского района в 2017 году. Учет результатов оплодотворяющей способности овец вели по количеству ягнений от искусственного осеменения овец (таб. 4.3).

**Таблица 4.3. Результаты искусственного осеменения овец заморожено - оттаянной спермой**

Были осеменены		Наблюдалась повторная охота		Плодотворно осеменено	
гол.		гол.	%	гол.	%
67		35	52,2	32	47,8

Из таблицы следует, что добавление в состав ГЦЖ среды, как дополнительного компонента BioR в дозе 0,6%/V позволило получить 47,8% ягнений от искусственного осеменения заморожено-оттаянной спермой.

## **ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

### **➤ Выводы**

1. Экспериментально установлено, что повреждения сперматозоидов увеличиваются по мере прохождения технологических этапов криоконсервации: разбавление, эквilibрация, замораживание и оттаивание, что приводит к значительным структурным повреждениям акросомы, наружной плазматической оболочки сперматозоидов и снижению оплодотворяющей способности замороженной спермы.

2. При разбавлении спермы разработанной нами средой, в состав которой в качестве дополнительного компонента вводился препарат BioR в концентрации 0,6% (патент на изобретение №4513) получены наилучшие показатели подвижности сперматозоидов, после замораживания-оттаивания- 62,0±2,9% (P≤0,01) по сравнению с контролем.

3. При разбавлении и замораживании спермы разработанной средой, процент сперматозоидов с аномалиями головки был ниже на достоверную разницу (P≤0,01).

Установлено снижение на достоверную разницу ( $P \leq 0,05$ ) и процента сперматозоидов с аномалиями хвостовой части сперматозоидов по сравнению с контрольной. В шейном сегменте сперматозоида отмечалось нивелирование различий между опытной и контрольной группой.

4. Применение препарата ZooBioR-1 и ZooBioR-2 оказывает положительное влияние на качество спермопродукции получаемой от баранов-производителей в неслучной сезон. Объем эякулята составил  $0,8 \pm 0,04$  мл ( $P \leq 0,001$ ), активность сперматозоидов увеличилась до  $80,0 \pm 1,6\%$ , концентрация сперматозоидов в эякуляте увеличилась до  $2,34 \pm 0,09$  млрд/мл, концентрация тестостерона в крови увеличилась до  $6,0 \pm 0,1$  ng/ml, что соответствует существующим требованиям, предъявленным к эякулятам, допущенным к замораживанию (патент на изобретение № 1460).

5. Разработанная нами среда для разбавления спермы баранов-производителей в большей степени, чем предлагаемые до сих пор, предохраняет сперматозоиды от повреждений акросомных структур и биологических мембран, способствует лучшей сохранности функциональной полноценности сперматозоидов. Оплодотворяемость овец, осемененных спермой замороженной в разработанном нами разбавителе составила 47%.

#### ➤ **Рекомендации для практики**

1. Для улучшения результативности метода искусственного осеменения в овцеводстве рекомендуем создать генетический банк замороженной спермы получаемой от баранов-производителей проверенных по качеству потомства в течение всего года. Это позволит ускорить темпы улучшения продуктивных и породных качеств овец разводимых в Республике Молдова.

2. Результаты проведенных научных исследований подтверждают эффективность использования разработанной синтетической среды, в состав которой в качестве дополнительного компонента вводился препарат BioR, для разбавления и замораживания спермы баранов-производителей, однако необходимо проводить более фундаментальные исследования для повышения криоустойчивости сперматозоидов в процессе их замораживания-оттаивания.

3. Для коррекции сперматогенеза у баранов-производителей в неслучной сезон рекомендуем использовать ZooBioR-1 и ZooBioR-2, которые позволяют получить высококачественную сперму, пригодную для разбавления и замораживания при  $-196$  °C и создать генетический банк спермы элитных баранов отечественных, импортных и исчезающих пород, а также рационального использования генетического материала.

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. ASTURIANO, J.G., CABRITA, E., HORVATH, A. Progress challenges and perspectives on fish gamete cryopreservation: A mini-review. *General and Comparative Endocrinology*. 2017, № 245, pp. 69-76
2. CIBOTARU, E.; DARIE, G.; PÎRLOG, A.; PLEȘCA, D. The role of antioxidants in boar semen preservation. *Scientific Papers-Animal Science Series: Lucrări Științifice - Seria Zootehnie*. Vol. 73(25). Editura „Ion Ionescu de la Brad”, Iași 2020. pp. 9-12. Print –ISSN: 1454-7368, electronic –ISSN: 2067-2330.
3. MICLEA, V., ZĂHAN, M., MICLEA, I., ILIȘIU, E., RUSU, A., VARO-GHIURU, F. Effect of freezing on spermatozoa from Tîgaie rams belonging to the mountain ecotype. *Bulleting of USAMB Timișoara, Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 2011, Vol. 44 (1), P 297-299, ISSN1841-9364
4. RAMALHO-SANTOS J., SCHATTEN G., MORENO R. D. Control of membrane fusion during spermatogenesis and the acrosome reaction. *Biology of Reproduction*. 2002. 67(4), 1043-1051. Disponibil: <https://doi.org/10.1095/biolreprod67.4.1043>
5. ROTARI, D. Research of the influence of antioxidants on the rams spermogram. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*. Vol. LXIII, Issue 1, Bucuresti 2020, pp. 74-82. ISSN 2285-5750.
6. ROTARI, D., DARIE, G., CHISELITA, O. Preservation of ram semen by refrigeration. In: *Scientific Papers. Series D. Animal Science*. Vol. LXIV, No. 1. București 2021, pp. 87-93; ISSN-L 2285-5750. Disponibil: DOI: 10.17930, ISI Web of Science.
7. RUDIC, V., DJUR, S., CEPOI, L., CHIRIAC, T., RUDI, L., ȘOVA, S. Cianobacteria *Spirulina platensis* – matrice pentru producerea compușilor organici selenocomponenți. In: *Academos* 2014, nr. 1(32), pp. 83-88.
8. RUDIC, V., GUDUMAC, V., POPOVICI, M. Fotobiotehnologie – realizări noi în biomedicină. Chișinău: Cuant, 1995, 208 p.
9. VERSIUNEA 12.3. HTM-CEROS autorizată pe 20 martie 2008. WebPage: [www.hamiltonhorne.com](http://www.hamiltonhorne.com)
10. АВАНОВ, Н.Я. Достижения в криоконсервировании спермы баранов. *Зоотехния*, 1990, № 2, 23 с.
11. АЙБАЗОВ, А.-М. М., АШУРБЕТОВ, К.К., МАЛАХОВА, Л.С. Биологические методы воспроизводства овец и коз. “Овцы, козы, шерстяное дело”, 2002. № 3, 25 с.
12. БЕКИШ В.Я., БЕКИШ В.В. Медицинская биология и общая генетика Учебник, 2-е изд., Витебск: Издательство ВГМУ, 2020, 400 с. ISBN 978-985-580-012-6
13. ДЕРЯЖЕНЦЕВ, В. И., ЕПИШИНА, Т. М. Новый криопротектор синтетической среды для разбавления и криоконсервации спермы баранов. *Ветеринарная патология*, 2008. № 3. 36-38 с.
14. ЕПИШИНА, Т.М. Повышение репродуктивных качеств свиней и овец. Москва, 2009, 163 с.
15. КАЗАКОВА, Ю., БОРОНЧУК, Г., БАЛАН, И., БУЗАН, В., МЕРЕУЦА, И., РОШКА, Н., БУКАРЧУК, М. Действие антиоксидантов в составе синтетических сред для криоконсервации спермы человека. Chișinău, Print Caro, 2020, pp. 399-400, ISBN 978-9925-56-808-0
16. ЛОПЫРИН, А.И. Биология размножения овец. М., Мир. 1971. 186.с
17. МИЛОВАНОВ, В.К. Биология воспроизведения и искусственного осеменения животных, М. 1962. 696 с.
18. НАРИЖНЫЙ, А.Г., ПОРФИРЬЕВ, И.А., САВИН, О.К. Новые антиоксиданты для глубокого замораживания спермы хряков. Свиноферма. 2005, № 4, с. 7-19
19. НАУК, В.А. Структура и функция спермиев сельскохозяйственных животных при криоконсервации. Кишинев: *Штиинца*. 1991, 200 с.
20. ОСТАШКО, Ф.И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей. Киев: *Урожай*. 1978, 254 с.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

### Articole în reviste științifice în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS (cu indicarea factorului de impact IF)

1. DADAEVA, M.M., ZHURAVLEVA, V.V., OSIPCHUK, G.V., BRADU, N.G., DJENJERA, I.G., ZIRUK, I.V., MIKHAILENKO, V.V., POVETKIN, S.N. Study of the effect of a complex of preparations containing aloe arborescens mill extract on the quality and quantity of sperm. *Entomology and Applied Science Letters*. 2023, Volume 10, Issue 1, Page No: 89-95. ISSN No: 2349-2864. (IF – 1,907) Disponibil: <https://doi.org/10.51847/WjZCQldc6y>

2. DARIE, G., IURCU, I., BRADU, N., ROTARI, D. Spermogram in breeding rams – breed of Tsigaiia Wool-meat-milk. In: *Scientific Papers. Series D. Animal Science*. București 2020, Vol. LXIII, No. 2. pp. 229-234, ISSN 2285-5750. (IF – 0,12)  
Disponibil: [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/229-234\\_11.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/229-234_11.pdf)

### în alte reviste din străinătate recunoscute

3. CIBOTARU, Elena, BRADU, Nina, ROTARI, Doina, DARIE, Grigore, DJENJERA, Irina. Research on ram sperm freezing. In: *Animal & food sciences journal Iasi*. Iași 20-21 Octiber, 2022. Vol. 78 (2), pp. 14-18, ISSN 2821 – 6644. Disponibil: [http://www.uaiasi.ro/firaa/revista/vol\\_78.html](http://www.uaiasi.ro/firaa/revista/vol_78.html)

4. BRADU, N. The technology of freezing rams sperm. In: *Zhivotnov'dni Nauki. Bulgarian Journal of Animal Husbandry*, Bulgaria, 2019, Vol.56 No.5, pp.47-50 ref.6. ISSN-L: 0514-7441, ISSN 2534-9856. Disponibil: [https://animalscience-bg.org/page/bg/details.php?article\\_id=532](https://animalscience-bg.org/page/bg/details.php?article_id=532)

### Articole în culegeri științifice naționale/internaționale culegeri de lucrări științifice editate peste hotare

5. ROTARI, D., BRADU, N., DARIE, G., CIBOTARU, E., DJENJERA, I. Stimulation of spermatogenesis in aries in the secondary season. In: *Scientific Papers-Animal Science Series: Lucrări Științifice - Seria Zootehnie, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Iași 2021*, vol. 75(26), pp. 149-153. ISSN 1454-7368. CNCSIS B+  
Disponibil: <http://dspace.uasm.md:8080/xmlui/handle/123456789/7153>

### în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

6. БРАДУ, Н.Г. Влияние периода эквilibрации на показатели качества спермы баранов-производителей. *Инновационные технологии в науке: управление качеством, метрологическое обеспечение, подходы и цифровизация производства в сфере АПК. I Всероссийская (национальная) научно-практическая конференция с международным участием. 28 апреля 2023*. Саратов. 2023. În ediție.

7. DARIE, Gr., CIBOTARU, Elena, BRADU, Nina, DJENJERA, Irina. Research on cryopreservation of ram semen. In: *Animalscience-challenges and innovations. Proceedings. Scientific conference with international participation*. Institute of Animal Science-Kostinbrod Sofia, Bulgaria, 1-3 November 2017. p. 406-409, ISBN978-619-90208-0-7.  
Disponibil: <http://www.ias.bg/images/PDF/Proceedings-IAS-2017.pdf>

8. ВАЧЕВСКИЙ, С.С., ОСИПЧУК, Г.В., БРАДУ, Н.Г. К вопросу повышения репродуктивных качеств молодых баранов. In: *Научные основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. Сборник науч. трудов СКНИИЖ по материалам 9-ой международной научно-практической конф.* Ч. 2. СКНИИЖ. Краснодар. 2016, с. 8-12. ISBN 978-5-9903565-2-8, ISBN 978-5-9903565-1-1, ISSN 2304-9820.

9. DARIE, G., CIBOTARU, Elena, BRADU, Nina, DJENJERA, Irina, PÎRLOG, Alisa. Studies concerning the cryopreservation of ram sperm. In: *"Modern animal husbandry – food safety*

*adn durable development". International Scientific Symposium. Manifestation devoted to 65 th anniversary of animal science higher education in Iasi, October, 20 th - 22 nd, 2016, Iasi-Romania, Editura „Ion Ionescu de la Brad”, 2016, vol. 66, pp. 60-63. ISSN-L 1454 – 7368.*

Disponibil: <http://dspace.uasm.md:8080/xmlui/handle/123456789/58150>

**în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională**

10. ROTARI, D., DARIE, G., CHISELIȚA, O., DJENJERA, I., **BRADU, N.**, CHISELIȚA, N., BEȘLIU, A. Influența extractului manoproteic din levurile de bere asupra conservării materialului seminal de berbec. In: *Simpozion științific național cu participare internațională: biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane. Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, 20-21 mai 2021. Chișinău 2021, pp.116-121. ISBN: 978-9975-3498-7-1. Disponibil: DOI: 10.52757/imb21.068.*

11. ОСИПЧУК, Г.В., ДЖЕНДЖЕРА, И.Г., ЮРКУ, Ю.С., **БРАДУ, Н.Г.** Опыт применения некоторых биологически активных веществ (БАВ) в свиноводстве. В: *Conferința științifico-practică cu participare internațională „Inovații în zootehnie și siguranța produselor animaliere – realizări și perspective”. Maximovca, 30 septembrie – 01 octombrie 2021. pp. 438 – 442. ISBN 978-9975-56-911-8. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/438-442\\_2.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/438-442_2.pdf)*

12. ROTARI, D., **BRADU, N.**, DJENJERA, I. Cercetări privind spermograma la berbeci din rasa Karakul moldovenesc. *Simpozionul "Zootehnie și Biotehnologii agricole " materialele Simpozionului Științific Internațional „85 ani ai Facultății de Agronomie – realizări și perspective”, dedicat aniversării a 85 de ani de la fondarea Universității Agrare de Stat din Moldova, 25 septembrie 2018. Chișinău 2018, V. 52(2), p.426-429. ISBN 978-9975-64-302-3. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/426-429\\_0.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/426-429_0.pdf)*

13. CIBOTARU, E., MATVIENCO, N., **BRADU, N.** Conservarea spermei prin refrigerare a spermei de berbec de la rasa Karakul. In: *Simpozionul științific internațional: Realizări și perspective în Zootehnie și Biotehnologii, 25 septembrie 2015, Chișinău, 2015. vol. 44, pp. 327-330. ISBN 978-9975-64-274-3.*

Disponibil: [http://dspace.uasm.md:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3518/Vol\\_44\\_327-330.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.uasm.md:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3518/Vol_44_327-330.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**Teze în culegeri științifice**

**în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)**

14. ROTARI, D., DARIE, G., RUDIC, V., MASHNER, O., **BRADU, N.**, DJUR, S., CHIRIAC, T., CHISELITA, O., CHISELITSA, N. Procedures for stimulating spermatogenesis in rams and boars. *Conferința „Cercetări și inovații în viziunea tinerilor cercetători” „Cadet INOVA'20”, Sibiu, Romania, 26-28 martie 2020, Manifestare științifică internațională.. Sibiu, România. Nr.5. 2020. pp. 368-370. ISSN 2501-3157, ISSN-L 2501-3157. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/368-370\\_3.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/368-370_3.pdf)*

15. DARIE, G., **BRADU, N.**, IURCU, I. Research on the influence of BIOR preparation on cryoconservation of ram sperm. *Scientific Papers-Animal Science Series: Lucrări Științifice - Seria Zootehnie, Editura „Ion Ionescu de la Brad” Iași, 2019, vol. 72, pp. 235-237. ISSN 2067-2330. Disponibil: [https://www.uaiasi.ro/firaa/Pdf/Pdf\\_Vol\\_72/G\\_Darie.pdf](https://www.uaiasi.ro/firaa/Pdf/Pdf_Vol_72/G_Darie.pdf)*

**în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională**

16. DARIE, G., CIBOTARU, E., **BRADU, N.**, DJENJERA, I. Spermograma la berbeci din rasele autohtone Karakul și Țigaie. In: *Știința zootehnică – factor important pentru o agricultură de tip european. 29 septembrie - 1 octombrie 2015, Maximovca. Maximovca: Print Caro, 2016, pp. 97-*



99. ISBN 978-9975-56-367-3. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/97-99\\_21.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/97-99_21.pdf)

17. **BRADU, N., MATVEENCO, N., ȘMILENCO, M.** Studiul spermogramei la berbeci de diverse rase. In: *Realizări și perspective în Zootehnie și Biotehnologii. Materialele simpozionului științific internațional, 25 septembrie 2015*, Chișinău, 2015. p. 341-343. ISBN 978-9975-64-274-3

18. ДАРИЙ, Г.Е., ОСИПЧУК, Г.В., ВАЧЕВСКИЙ, С.С., ЧЕРБУ, И., **БРАДУ, Н.Г.** К вопросу повышения репродуктивных качеств молодых баранов. *Simpozionul "40 ani de învățământ superior medical veterinar în Republica Moldova", 3 octombrie 201*. Молдова, Chișinău. 2014, pp. 295-296. ISBN 978-9975-64-247-7. Disponibil: [https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag\\_file/295-296\\_2.pdf](https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/295-296_2.pdf)

**Alte lucrări științifice (recomandate spre editare de o instituție acreditată în domeniu)  
cărți (cu caracter informativ)**

19. DARIE, Gr., MAȘNER, O., CIBOTARU, E., PÎRLOG, A. ROTARI, D., **BRADU, N., OSIPCIUC, G., DJENJERA, I.** Însămânțarea artificială la ovine. Recomandări. Maximovca: S. n., 2020, 56 p. ISBN 978-9975-56-819-7.

**Brevete de invenții și alte obiecte de proprietate intelectuală,  
materiale la saloanele de invenții**

20. DARIE, Grigore, VACEVSCHI, Serghei, **BRADU, Nina**, DJENJERA, Irina, OSIPCIUC, Galina, MAȘNER, Oleg. *Dispozitiv pentru însămânțarea artificială a ovinelor și caprinelor*. Brevet de invenție 4715 B1. Institutul Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară. Nr.depozit a 2018 0060. Data depozit 2018.08.06. Publicat 31.10.2020. In: BOPI. 2020, nr.10, p. 45.

Disponibil: [https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI\\_10\\_2020.pdf](https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI_10_2020.pdf)

21. DARIE, G., ROTARI, D., MAȘNER, O., **BRADU, N.**, RUDIC, V., DJUR, S., CHIRIAC, T., CHISELIȚA, O. *Procedeu de stimulare a spermatogenezei la berbeci în extrasezon*. Brevet de invenție 1460.Y Institutul Științifico-practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară, MD; Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, MD. Nr.depozit s 2019 0037. Data depozit 2019.03.26. Publicat 31.10.2020. In: BOPI. 2020, nr. 10, p. 53.

Disponibil: [https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI\\_10\\_2020.pdf](https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI_10_2020.pdf)

22. DARIE, Grigore, HAREA, Vasile, CIBOTARU, Elena, **BRADU, Nina**, DJENJERA, Irina, RUDIC, Valeriu, CHISELIȚA, Oleg, CHIRIAC, Tatiana, DJUR, Svetlana. *Mediu de protecție pentru crioconservarea materialului seminal de berbeci*. Brevet de invenție 4513 B1, Institutul Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară. MD; Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, MD; Nr.depozit a 2016 0126. Data depozit 2016.11.21. Publicat 2017.09.30. In: BOPI. 2017, nr. 9, p. 31.

Disponibil: [https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI\\_09\\_2017.pdf](https://agepi.gov.md/sites/default/files/bopi/BOPI_09_2017.pdf)

**Lucrări științifico-metodice și didactice manuale pentru învățământul universitar  
(aprobate de consiliul științific /senatul instituției)**

23. СКРИПКИН, В.С., ВАЧЕВСКИЙ, С.С., ПИСАРЕНКО, Н.А., ФЕДОТА, Н.В., КВОЧКО А.Н., БЕЛУГИН Н.В., ПОВЕТКИН С.Н., ОСИПЧУК, Г.В., **БРАДУ Н.Г.**, КАРАМАН М.А. Повышение эффективности технологии искусственного осеменения овец. Учебно-методическое пособие. Ставропольский гос. Аграрный ун-т. Ставрополь, 2017. 52 с. ISBN 978-5-9596-1372-3.

## ADNOTARE

**Bradu Nina „Influența preparatului BioR asupra crioconservării spermei de berbec”,  
teză de doctor în științe agricole, Maximovca, 2023.**

**Structura tezei:** introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie cu 213 titluri, 111 pagini de text de bază, 23 figuri, 27 tabele, 5 anexe. Rezultatele obținute sunt publicate în 23 lucrări științifice.

**Cuvinte-cheie:** spermă, mediu de crioconservare, ejaculate, berbec-reproducător, mobilitate, volum, densitatea, acrozom, viteza de mișcare.

**Scopul lucrării:** perfecționarea metodelor de crioconservare a materialului seminal prelevat de la berbeci și corecția spermatogenezei în sezonul secundar al reproducției pentru eficientizarea înșămânțării artificiale a ovinelor.

**Obiectivele cercetării:** studiul indicilor spermogramelor în sezonul secundar al reproducției prelevate de la berbeci-reproducători de rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte; studiul impactului preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 asupra corecției spermatogenezei la berbeci în sezonul secundar al reproducției; determinarea eficienței introducerii preparatului BioR în componența mediului de crioconservare (glucoză-citrat-gălbenuș de ou) ca component suplimentar asupra calității spermei decongelate de berbec; evaluarea proprietăților morfologice și fiziologice ale spermatozoizilor în funcție de diluantul utilizat; elaborarea unui mediu de protecție pentru diluarea și crioconservarea spermei de berbec și studiul impactului acestuia asupra calității biologice a materialului seminal congelat-decongelat; studiul fecundității oilor înșămânțate cu spermă diluată și congelată-decongelată cu mediu de protecție pentru crioconservare elaborat.

**Noutatea și originalitatea științifică:** constă în completarea prevederilor teoretice existente care permit sporirea eficienței metodei biotehnologice de înșămânțare artificială a oilor cu material seminal congelat-decongelat, în condițiile Republicii Moldova. S-au obținut indicatori optimi de fecunditate la oile înșămânțate cu material seminal congelat-decongelat obținut de la berbeci din rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână - carne - lapte. A fost demonstrată posibilitatea colectării, crioconservării și depozitării materialului seminal congelat în banca de gene, pentru menținerea genotipurilor locale. Pentru prima dată a fost demonstrată posibilitatea sporirii criorezistenței spermatozoizilor prin introducerea în componența mediului pentru crioconservare a concentrațiilor scăzute de substanțe cu acțiuni specifice și nespecifice (BioR). În rezultatul cercetărilor au fost elaborate: recomandări pentru înșămânțarea artificială a ovinelor (2020); mediu de protecție pentru crioconservarea materialului seminal de berbeci (Brevet nr. 4513); procedeu de stimulare a spermatogenezei la berbeci în extrasezon (Brevet nr. 1460).

**Rezultatul obținut care contribuie la soluționarea unei probleme științifice importante:** constă în elaborarea și implementarea în condiții de producție a unui mediu de protecție pentru diluarea și crioconservarea materialului seminal al berbecilor-reproducători, precum și corecția spermatogenezei la berbeci în sezonul secundar al reproducției, ceea ce eficientizează utilizarea acestora și crearea unei bănci genetice de material seminal congelat, care va accelera rata de ameliorare a calităților productive ale raselor locale.

**Semnificația teoretică:** constă în argumentarea principiilor fundamentale care stau la baza elaborării biotehnologiilor eficiente a reproducerii ovinelor.

**Valoarea aplicativă:** se propune o metodă de corecție a spermatogenezei la berbecii reproducători în extrasezon, care are următoarele calități pozitive: îmbunătățirea indicatorilor cantitativi și calitativi a materialului seminal proaspăt obținut, sporește rezistența spermatozoizilor în procesul de prelucrare tehnologică. Utilizarea acestei metode face posibilă obținerea pe tot parcursul anului a materialului seminal de calitate înaltă, potrivit pentru congelare și reducerea costurilor de întreținere a berbecilor prin optimizarea numărului acestora.

Se propune un mediu de protecție eficient care permite reducerea la minimum a deteriorării spermatozoizilor în procesul crioconservării.

Rezultatele cercetării au devenit baza pentru perfecționarea metodelor și mijloacelor de înșămânțare artificială a oilor și crearea unei bănci de material seminal de berbeci-reproducători valoroși.

**Implementarea rezultatelor științifice:** rezultatele obținute sunt implementate la ferma de ovine STE „Maximovca”. În baza rezultatelor cercetării au fost elaborate recomandări practice pentru înșămânțarea artificială a ovinelor; a fost creată banca genetică de material seminal crioconservat prelevat de la berbeci-reproducători de mare valoare zootehnică.



## АННОТАЦИЯ

**Браду Нина «Влияние препарата BioR на криоконсервацию спермы барана», диссертация на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук, Максимовка, 2023.**

**Структура диссертации:** введение, четыре главы, обсуждение полученных результатов, выводы, практические предложения, библиография из 213 источников, 111 страниц основного текста, 23 рисунков, 27 таблиц, 5 приложений. Полученные результаты отражены в 23 научных работах.

**Ключевые слова:** сперма, среда для криоконсервации, эякулят, баран-производитель, подвижность, объем, концентрация, акросома, скорость движения.

**Цель исследований:** совершенствование методов криоконсервации спермы баранов и коррекции сперматогенеза в неслучной сезон для улучшения результативности искусственного осеменения овец.

**Задачи исследований:** изучить количественные и качественные показатели спермы баранов-производителей Цигайской породы овец молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления продуктивности; изучить влияния препаратов ZooBioR-1 и ZooBioR-2 на коррекцию сперматогенеза баранов в неслучной сезон; определить эффективность введения препарата BioR в состав среды для криоконсервации (глюкозо-цитрато-желточную) как дополнительного компонента на качество оттаянной спермы баранов; оценить морфологические и физиологические свойства сперматозоидов в зависимости от применяемого разбавителя; разработать синтетическую среду для разбавления и криоконсервации спермы баранов и изучить её влияние на качество и биологическую полноценность заморожено-оттаянной спермы; изучить эффективность оплодотворяемости овец, осеменённых заморожено-оттаянной спермой, разбавленной перед замораживанием разработанной синтетической средой.

**Научная новизна:** заключается в усовершенствовании теоретических положений, позволяющих повысить эффективность биотехнологического метода искусственного осеменения овец заморожено-оттаянной спермой в условиях Республики Молдова. Получены оптимальные показатели суягности овец, осеменённых заморожено-оттаянной спермой, полученной от баранов-производителей Цигайской породы молдавского типа шерстно-мясо-молочного направления. Доказана возможность сохранения замороженной спермы и создания банка генов баранов-производителей местных пород овец для сохранения местных генотипов. Впервые показана возможность повышения криоустойчивости сперматозоидов введением в состав среды для замораживания низких концентраций препарата со специфическими и не специфическими действиями (BioR). На основе проведённых исследований разработаны: рекомендации по искусственному осеменению овец (2020); среда для криоконсервации спермы баранов-производителей (Патент № 4513); способ стимуляции сперматогенеза у баранов-производителей в неслучной сезон (Патент № 1460).

**Полученный результат способствующий решению важной научной проблемы:** состоит в разработке и применении в производственных условиях синтетической среды для разбавления и замораживания спермы баранов-производителей, а также коррекции сперматогенеза у баранов в неслучной период, что способствует решению проблем улучшения их эффективности использования и создания генетического банка замороженной спермы, что позволит ускорить темпы улучшения продуктивных качеств местных пород.

**Теоретическое значение** заключается в аргументации фундаментальных принципов, лежащих в основе разработки эффективных биотехнологий воспроизводства овец.

**Практическая значимость.** Предложен способ коррекции сперматогенеза у баранов-производителей в неслучной сезон, обладающий следующими положительными качествами: улучшаются количественные и качественные показатели свежеполученной спермы, а также повышается резистентность сперматозоидов в процессе технологической обработки. Применение данного способа позволяет получать качественную сперму в течение всего года, пригодную для глубокого замораживания и снизить затраты на содержание баранов-производителей, за счёт оптимизации их необходимого количества. Предложена эффективная защитная среда, позволяющая минимизировать повреждение сперматозоидов в процессе криоконсервации. Результаты исследований стали основой для усовершенствования методов и способов искусственного осеменения овец и создания банка спермы высокоценных баранов-производителей.

**Внедрение научных результатов:** полученные результаты внедрены на овцеводческой ферме STE "Maximovca". На основании результатов исследований разработаны практические рекомендации по искусственному осеменению овец, создан генетический банк криоконсервированной спермы баранов-производителей высокой зоотехнической ценности.

## ANNOTATION

**Bradu Nina "The effect of BioR preparation on the cryopreservation of the ram sperm", dissertation for the degree of Doctor of Agricultural Sciences, Maksimovka, 2023.**

**Thesis structure:** introduction, four chapters, discussion of the results, conclusions, practical suggestions, bibliography from 213 sources, 111 pages of main text, 23 figures, 27 tables, 5 appendices. The results obtained are reflected in 23 scientific papers.

**Key words:** sperm, medium for cryopreservation, ejaculate, breeding ram, mobility, volume, concentration, acrosome, movement speed.

**The aim of the research:** improving the methods of cryopreservation of ram semen and correcting spermatogenesis in a non-producing period to improve the effectiveness of artificial insemination of sheep.

**Research objectives:** to study the quantitative and qualitative indicators of the sperm of rams-producers of the Tsigai breed of sheep of the Moldovan type of wool-meat-dairy productivity; to study the effects of ZooBioR-1 and ZooBioR-2 preparations on the correction of spermatogenesis in rams in the secondary breeding season; to determine the effectiveness of introducing the BioR preparation into the composition of the glucose-citrate-yolk medium, as an additional component, on the quality of thawed semen of rams; evaluate the morphological and physiological properties of spermatozoa depending on the diluent used; to develop a protective medium for dilution and cryopreservation of ram semen before freezing and to study its effect on the quality and biological usefulness of frozen-thawed semen; to study the fertility efficiency of sheep inseminated with frozen-thawed sperm diluted before freezing with the developed protective medium.

**Scientific novelty:** it consists in the improvement of theoretical provisions that allow to increase the efficiency of the biotechnological method of artificial insemination of sheep with frozen-thawed sperm in the conditions of the Republic of Moldova. Optimal indicators of pregnancy of sheep inseminated with frozen-thawed sperm obtained from rams of the Tsigay breed of the Moldovan type of the wool-meat-and-milk direction were obtained. The possibility of obtaining, cryopreserving and storing frozen sperm in a gene bank to preserve local genotypes. For the first time, the possibility of increasing the cryoresistance of spermatozoa by introducing into the composition of the medium for cryopreservation low concentrations of substances with specific and non-specific actions has been shown (BioR). On the basis of the conducted research, the following were developed: recommendations for artificial insemination of sheep (2020); protective medium for cryopreservation of ram semen (Patent No. 4513); a method for stimulating spermatogenesis at rams in the non-roaming season (Patent No. 1460).

**The obtained result, which contributes to the solution of an important scientific problem:** it consists in the development and application of a protective medium under production conditions for diluting and freezing the sperm of rams, as well as correcting spermatogenesis at rams in a non-producing period, which contributes to solving problems of improving their efficiency of use and creating a genetic frozen sperm bank, which will accelerate the rate of improvement of the productive qualities of local breeds.

**The theoretical significance** consists in arguing the fundamental principles underlying the development of effective biotechnologies of sheep reproduction.

**Practical significance.** A method is proposed for correcting spermatogenesis at rams in a non-roaming season, which has the following positive qualities: the quantitative and qualitative indicators of freshly obtained sperm are improved, and the resistance of spermatozoa in the process of technological processing is also increased. The use of this method makes it possible to obtain high-quality sperm throughout the year, suitable for deep freezing and to reduce the cost of keeping rams by optimizing their required number. An effective protective environment has been proposed to minimize damage to spermatozoa during cryopreservation. The research results have become the basis for improving the methods and forms of artificial insemination of sheep and creating a sperm bank of high-value rams.

**Implementation of scientific results:** the obtained results are implemented at the TES sheep farm "Maximovca". Based on the research results, practical recommendations for artificial insemination of sheep have been developed, the genetic bank of cryopreserved semen taken from breeding rams of high zootechnical value was created.

**БРАДУ НИНА**

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА BioR НА КРИОКОНСЕРВАЦИЮ  
СПЕРМЫ БАРАНА**

421.01. Разведение и биотехнология воспроизводства животных

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
доктора сельскохозяйственных наук

---

Принято в печать: 26.07.2023

Размер бумаги 60x84 1/16

Бумага офсет. Печать офсет.

Тираж 20

Печатных листов: 2,0

Заказ nr. 1

---