

**INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE BIOTEHNOLOGII ÎN
ZOOTEHNIE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ**

Cu titlu de manuscris
C.Z.U.: 636.3.082.453.53

BRADU NINA

**INFLUENȚA PREPARATULUI BioR ASUPRA
CRIOCONSERVĂRII SPERMEI DE BERBEC**

421.01 – Ameliorarea și biotehnologia reproducerii animalelor

Rezumatul tezei de doctor în științe agricole

MAXIMOVCA, 2023

Teza a fost elaborată în cadrul Instituției Publice „Institutul Științifico-Practic de Biotehnologie în Zootehnie și Medicină Veterinară”, în calitate de instituție organizatoare de doctorat și membru al Școlii doctorale din cadrul Parteneriatului Instituțiilor din Învățământ și Cercetare din Agricultură.

Conducător de doctorat:

DARIE Grigore, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar.

Consultant științific:

RUDIC Valeriu, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar, academician.

Referenți oficiali:

STRUTINSCHII Tudor, doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător;

MARCOV Nicolai, doctor în științe agricole, conferențiar universitar (Bulgaria).

Componenta Consiliului Științific Specializat:

BALAN Ion, președinte, doctor habilitat în științe biologice, conferențiar cercetător;

LUPOLOV Tatiana, secretară științifică, doctor în științe agricole, conferențiară universitară;

LIUȚCANOV Petru, doctor habilitat în științe agricole, conferențiar cercetător;

FOCȘA Valentin, doctor habilitat în științe agricole, conferențiar cercetător;

MAȘNER Oleg, doctor în științe agricole, conferențiar cercetător.

Susținerea va avea loc pe 08 septembrie 2023, la ora 14.00 în ședința Consiliului științific specializat D 421.01-23-26 din cadrul Institutului Științifico-Practic de Biotehnologie în Zootehnie și Medicină Veterinară, pe adresa: s. Maximovca, r-nul Anenii Noi, MD-6525, str. Școlară, 15.

Teza de doctor și rezumatul pot fi consultate la biblioteca ISPBMV pe adresa: s. Maximovca, r-nul Anenii Noi, MD-6525, str. Școlară, 15 și pe pagina web a ANACEC, www.anacec.md.

Rezumatul a fost expediat la 04 august 2023

Secretară științifică a Consiliului Științific Specializat,

LUPOLOV Tatiana, dr.

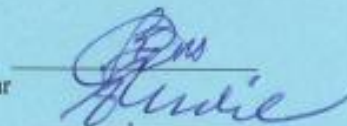
Conducător de doctorat:

DARIE Grigore, doctor habilitat în științe biologice,
profesor universitar

RUDIC Valeriu, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar
Academician

Autor:

Bradu Nina



© Bradu Nina, 2023

CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII.....	4
CONȚINUTUL TEZEI.....	7
1. ASPECTE TEHNOLOGICE ÎN CRIOCONSERVAREA MATERIALELOR BIOLOGICE ..	7
2. OBIECTUL DE STUDIU ȘI METODELE APLICATE ÎN CERCETAREA INFLUENȚEI PREPARATELOR BioR, ZooBioR-1 ȘI ZooBioR-2 ASUPRA CRIOCONSERVĂRII SPERMEI DE BERBEC.....	8
3. INFLUENȚA PREPARATELOR BIOLOGIC ACTIVE ASUPRA CALITĂȚII SPERMEI... 9	
3.1. Rezultatele testării spermei brute prelevate de la berbeci din rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte.....	9
3.2. Exploatarea pe parcursul întregului an a berbecilor-reproducători.....	12
3.3. Influența preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 asupra spermatogenezei la berbeci- reproducători.....	16
4. CRIOCONSERVAREA SPERMATOZOIZILOR ȘI CAPACITATEA FECUNDANTĂ A LOR	20
4.1. Studiul privind influența preparatului BioR introdus ca component suplimentar în mediul de diluție, în procesul crioconservării spermei de berbec.....	20
CONCLUZII GENERALE	24
RECOMANDĂRI PRACTICE.....	25
BIBLIOGRAFIA	25
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI	27
ADNOTARE.....	30
АННОТАЦИЯ	31
ANNOTATION	32

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța temei abordate constă în studierea pentru prima dată a spermogramelor berbecilor-reproducători de rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte, elaborarea și implementarea în biotehnologia reproducerii ovinelor a mediilor de crioconservare a materialului seminal prelevat de la berbeci-reproducători și corecția spermatogenezei la berbeci în sezonul secundar al reproducției pentru eficientizarea înșămânțărilor artificiale la ovine.

Creșterea ovinelor pentru Republica Moldova este o ramură tradițională, dar în perioada de trecere la economia de piață, creșterea ovinelor a trecut printr-o perioadă economică complicată. Aceste schimbări au dus la diminuarea eficienței creșterii ovinelor. Totuși, în ultimul deceniu, în sectorul creșterii ovinelor s-a instalat o tendință de stabilizare a ramurii, au parvenit interese în creșterea ovinelor, s-au procurat diverse rase mai productive, care vor permite restabilirea efectivului de ovine din rase mai productive. Una din condițiile care va permite sporirea producțiilor și efectivelor, paralel cu crearea unei baze furajere de foarte bună calitate și cantitate, este reproducția intensivă, folosirea la maximum a potențialului biologic oilor mame și a reproducătorilor de mare valoare zootehnică [17, 14, 1, 6].

Elaborarea metodei de crioconservare a materialului seminal nu a fost posibilă fără cunoștințe profunde privind mecanismul deteriorării și stabilizării integrității celulare în procesul crioconservării. Totodată, a fost elaborată teoria anabiozei în procesul de răcire și congelare a apei în celule [20].

Cercetările ulterioare au demonstrat că procesul crioconservării-reanimării se datorează proceselor fizico-chimice ale apei și comportamentul ei în procesul scăderii temperaturii, însă procesul propriu-zis de cristalizare și topire a gheții este influențat de caracterul obiectului, compoziția lichidului biologic și viteza de scădere a temperaturii.

În lucrările cercetătorilor [16, 10, 11, 13] se menționează că una din neajunsurile fecundității joase a oilor sunt factorii de rutină prin folosirea unor tehnologii, metode și instrumentar neadecvate pentru înșămânțarea artificială, care influențează negativ asupra fecundității.

Totodată, s-a demonstrat că eficiența înșămânțărilor artificiale a oilor cu material seminal crioconservat prezintă rezultate sub nivelul cerințelor și necesită cercetări fundamentale care vor permite elaborarea metodelor eficiente privind viabilitatea spermatozoizilor după reanimare și menținerea capacității fecundante a lor. De aceea, argumentarea proceselor de protejare a spermatozoizilor în procesul tehnologic de crioconservare a materialului seminal va permite de a proteja criodeteriorările spermatozoizilor în procesul conservării și depozitării lor.

Cunoașterea factorilor deteriorării spermatozoizilor la diferite etape a protocolului de crioconservare va permite elaborarea tehnologiilor adecvate de crioconservare a materialului seminal prelevat de la berbeci [14, 1, 6].

Cea mai accesibilă metodă de soluționare a problemelor reproducției ovinelor este elaborarea metodelor eficiente de crioconservare a materialului seminal prelevat de la berbeci-reproducători cu păstrarea la nivel înalt a capacității fecundante a spermatozoizilor după reanimare, exploatarea berbecilor-reproducători pe parcursul întregului an, crearea băncii de material seminal crioconservat, apt pentru folosirea la însămânțarea artificială a oilor [2, 3, 5, 15, 17, 18, 19].

Situația în domeniul cercetării și identificarea problemelor de cercetare. În ultimele decenii direcțiile prioritare ale cercetărilor din domeniu sunt bazate pe ideea că, în procesul crioconservării spermei, procentul fermenților care ies din spermatozoizi depinde de localizarea lor și legăturile lor cu alte structuri ale spermatozoidului, componența mediilor de diluție, condițiile de stocare etc. Prin urmare, depistarea problemelor de protecție în procesul stocării spermei diluate va permite elaborarea noilor direcții în ameliorarea păstrării integrității spermatozoizilor în procesul stocării lor. Rezolvarea acestor probleme, foarte importante pentru domeniu, va permite efectuarea cercetărilor comparative privind particularitățile spermei de berbec la adaptarea spermatozoizilor la procesele termodinamice, prin urmare la sporirea rezistenței de adaptare în procesul stocării lor *in vitro* [2, 3, 5, 15, 17].

În ramura zootehnicii, perspectiva implementării însămânțării artificiale cu spermă congelată deschide noi oportunități și, totodată, impune folosirea cât mai intensivă a berbecilor valoroși pe tot parcursul anului prin colectarea și depozitarea spermei congelate.

În procesul lucrului de selecție, elaborarea metodelor biotehnologice mai eficiente de crioconservare a spermei va permite substanțial de a spori arealul de folosire a reproducătorilor valoroși în procesul de reproducție.

Elaborările propuse permit de a intensifica selecția berbecilor-reproducători, aprecierea cu exactitate a calităților reproductive și, prin urmare, a spori eficacitatea lucrului de selecție în ovicultură. Rezolvarea problemei crioconservării spermei de berbec va permite depozitarea spermei pe durată lungă de timp și crearea băncii de gene, transportarea spermei congelate la distanțe mari în scopul potrivirii perechilor, încrucișării nominalizate și crearea de noi rase.

În condițiile noi a economiei de piață, eficacitatea ramurii creșterii ovinelor depinde în mare măsură de eficacitatea lucrului de reproducție. Totodată, potențialul metodei de însămânțare artificială se realizează parțial. Unul din motivele de bază a acestei situații este lucrul dificil a unor operațiuni la efectuarea însămânțărilor artificiale. De aceea, paralel cu perfecționarea metodelor biotehnologice privind însămânțarea artificială a oilor, de actualitate sunt și metodele de crioconservare a spermei de berbec.

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

Obiectivele cercetării:

1. Studiul indicilor cantitativi și calitativi a spermei brute prelevată de la berbeci-reproducători de rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte.
2. Studiul impactului preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 asupra corecției spermatogenezei la berbeci în sezonul secundar al reproducției.
3. Determinarea eficienței introducerii preparatului BioR în componența mediului de crioconservare (glucoză-citrat-gălbenuș de ou) ca component suplimentar asupra calității spermei decongelate de berbec.
4. Evaluarea proprietăților morfologice și fiziologice ale spermatozoizilor în funcție de diluantul utilizat.
5. Elaborarea unui mediu de protecție pentru diluarea și crioconservarea spermei de berbec.
6. Studiul fecundității oilor însămânțate cu spermă diluată și congelată-reanimată cu mediu de protecție elaborat.

Ipoteza de cercetare: este bazată pe faptul că eficacitatea reproducției ovinelor este influențată de implementarea metodelor biotehnologice eficiente noi care permit exploatarea eficientă a fondului genetic valoros testat după calitatea descendenței. Folosirea preparatelor biologic active pentru stimularea spermatogenezei în sezonul secundar al reproducției va permite obținerea de ejaculate de cantitate și calitate superioare ce vor permite sporirea rezistenței spermatozoizilor în procesul crioconservării, care va eficientiza exploatarea berbecilor pe parcursul întregului an și crearea băncii genetice de spermă.

Sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare alese este bazată pe implementarea, în tehnica biotehnologiilor, a metodelor macroscopice, microscopice, biochimice, morfologice și cinetice de testare a spermogramelor, totodată s-a demonstrat eficiența folosirii preparatelor biologic active extrase din *Spirulina platensis* (BioR) introduse în tehnologia crioconservării spermei în condiții de laborator și în practică.

În calitate de obiect de cercetare au servit: preparatele BioR, ZooBioR-1, ZooBioR-2, berbecii din rasa Țigaie tip moldovenesc și sperma prelevată de la berbeci prin metoda clasică (vagină artificială). În condiții de laborator, testarea indicilor calitativi a spermei brute și a spermei supuse prelucrării s-a efectuat prin folosirea metodei computerizate CEROS [9]. Preparatele biologic active BioR, ZooBioR-1 și ZooBioR-2 au fost produse la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie a Universității Tehnice din Moldova.

Reieșind din scopul și obiectivele preconizate în vederea argumentării ipotezei de cercetare au fost folosite metode clasice și metode moderne de studiu: recoltarea materialului seminal de la berbeci prin metoda vaginei artificiale, examinarea macroscopică a materialului seminal brut prin metoda vizuală, testarea microscopică a materialului seminal brut și crioconservat reanimat prin metoda computerizată CEROS, metode de apreciere a vitezei de înaintare a spermatozoizilor (VAP,

VSL, VCL), testarea integrității acrozomului și a anomaliilor morfologice a spermatozoizilor, dinamica testosteronului în serul sanguin, indicii hematologici și biochimici ai sângelui berbecilor, statistice de analize a rezultatelor experimentale și evaluării rezultatelor înșămânțării artificiale a ovinelor cu materialul seminal congelat.

CONȚINUTUL TEZEI

În capitolul „*Introducere*” este argumentată actualitatea științifică, noutatea științifică a rezultatelor obținute, situația actuală în domeniu, sunt formulate scopul și obiectivele cercetărilor, ipoteza de cercetare, sinteza metodologică de cercetare și justificarea materialului de cercetare ales.

1. ASPECTE TEHNOLOGICE ÎN CRIOCONSERVAREA MATERIALELOR BIOLOGICE

În acest capitol sunt prezentate date din literatura de specialitate privind:

- bazele fizico-chimice ale crioconservării și reanimării materialelor biologice, unde sunt stipulate argumentele și mecanismele deteriorării lor, criorezistența lor, metode care sunt necesare pentru elaborarea tehnologiilor eficiente privind crioconservarea materialelor biologice;

- sunt descrise mecanismele criodeteriorării spermatozoizilor, care au deschis mari posibilități privind implementarea pe scară largă a înșămânțărilor artificiale, precum și au permis conservarea resurselor genetice a raselor autohtone și pe cale de dispariție. În ramura creșterii ovinelor, conform datelor din literatura de specialitate, tehnologia crioconservării spermei nu este practică pe scară largă în producție datorită rezultatelor nesatisfăcătoare privind fecunditatea oilor, însă cercetările în acest domeniu sunt de mare perspectivă;

- sunt elucidate metodele de depozitare a spermei congelate, totodată este menționat că eficacitatea crioconservării, cum se menționează în literatura de specialitate, în mare măsură depinde de mediile sintetice folosite care trebuie să conțină în componența sa neelectroliți, electroliți, fosfolipide, antioxidanți, substanțe crioprotectoare, compuși biologic activi etc., care au menirea să protejeze spermatozoizii în procesul tehnologic de crioconservare;

- sunt descrise metodele de protecție a spermatozoizilor contra factorilor externi, influența gălbenușului de ou de găină asupra șocului termic în perioada refrigerării spermatozoizilor, influența glicerinei introdusă în componența mediilor de diluție a spermei și influența procesului de crioconservare și reanimare asupra integrității biologice a spermatozoizilor.

În baza studiului literaturii de specialitate, a fost argumentată importanța implementării în ramura creșterii ovinelor a preparatelor destinate corecției spermatogenezei la berbeci în sezonul secundar al reproducției pentru exploatarea lor pe parcursul întregului an și eficientizării tehnologiilor de crioconservare a spermei de berbec.

2. OBIECTUL DE STUDIU ȘI METODELE APLICATE ÎN CERCETAREA INFLUENȚEI PREPARATELOR BioR, ZooBioR-1 ȘI ZooBioR-2 ASUPRA CRIOCONSERVĂRII SPERMEI DE BERBEC

Capitolul prezintă schema cercetărilor, obiectul și metodele folosite în procesul efectuării cercetărilor. Obiect de studiu au servit sperma brută prelevată de la berbeci din rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte, crescuți la Stațiunea Tehnologico – Experimentală (STE) „Maximovca”, satul Maximovca, raionul Anenii Noi, precum și preparatele BioR, ZooBioR-1 și ZooBioR-2 elaborate la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie a Universității Tehnice din Moldova. Eficiența preparatului BioR, introdus ca component suplimentar în mediul GȚJ, asupra calității spermei congelate-reanimate s-a efectuat în condițiile laboratorului de Biotehnologii în Reproducție și Transfer de Embrioni a Institutului Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară, prin programul computerizat CEROS.

Eficiența preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 asupra stimulării spermatogenezei la berbeci în sezonul secundar al reproducției s-a efectuat la ferma de oi a gospodăriei STE „Maximovca” pe berbeci-reproducători de rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte. Datele experimentale obținute permit de a recomanda preparatele ZooBioR-1 și ZooBioR-2 pentru stimularea spermatogenezei la berbeci în sezonul secundar al reproducției în scopul congelării și depozitării spermei în banca genetică. ZooBioR-1 este un preparat complex natural constituit dintr-o combinație de extracte de compuși biologic activi. Preparatul conține aminoacizi liberi și oligopeptide (4,5 – 10%), proteine (45 – 50%), polizaharide, inclusiv sulfatate (15 – 20%), zinc (2,5 – 5 mg). ZooBioR-2 este un preparat complex natural constituit dintr-o combinație de extracte de compuși biologic activi. Preparatul conține aminoacizi liberi și oligopeptide (4,5 – 10%), proteine (45 – 50%), polizaharide, inclusiv sulfatate (15 – 20%), fosfolipide (până la 0,25%), seleniu (25 – 50 mcg).

Indicii hematologici și biochimici ai sângelui prelevat de la berbeci luați în studiu s-au apreciat în condițiile laboratorului Biotehnologii în Reproducție și Transfer de Embrioni a Institutului Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară cu ajutorul analizatorului biochimic Stat FAX.

Elaborarea mediului sintetic destinat crioconservării spermei de berbec prin introducerea, ca component suplimentar, a preparatului BioR în concentrație de la 0,1 până la 1,0% s-a efectuat în condițiile laboratorului Biotehnologii în Reproducție și Transfer de Embrioni a Institutului Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară. BioR este un preparat biologic complex obținut din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*. Conține aminoacizi esențiali și non-esențiali, inclusiv aminoacizii imunoactivi (valina, triptofanul, treonina, acidul aspartic, acidul glutamic, alanina, arginina, cisteina, glicina, serina, acidul gama-aminobutiric),

polizaharide sulfatate, acizi grași polinesaturați, inclusiv acidul gama-linolenic, macro- și microelemente esențiale. Complexitatea biologică a compoziției BioR determină următoarele proprietăți ale acestuia: antioxidante, citoprotectoare, regenerante, imunomodulatoare. BioR stabilizează membranele celulare și lizozomale, normalizează și menține la un nivel optim echilibrul dintre sistemele de oxidare peroxidică a lipidelor și cel antioxidant, crește potențialul antioxidant al verigilor enzimatică și neenzimatică: majorează nivelul superoxidismutazei, catalazei, enzimelor glutationice, restabilește conținutul glutationului redus, tocoferolului etc.

Reduce sarcina virală de câteva ori în celulele și țesuturile afectate. Mecanismul de acțiune este determinat de capacitatea BioR de a bloca procesul de replicare virală prin inhibiția sintezei acizilor nucleici virali. Pe de altă parte BioR activează protecția imună antivirală a organismului, prin inducerea sintezei interferonilor endogeni de prima linie: alfa și beta și a interferonului gama.

Testarea indicilor calitativi a spermei prelevată de la berbeci-reproducători s-a efectuat conform GOST 32277-2013 pentru depozitarea în banca genetică a laboratorului Biotehnologii în Reproducere și Transfer de Embrioni a Institutului Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară.

În baza cercetărilor efectuate a fost elaborat mediul de diluție și crioconservarea materialului seminal de berbec (Brevet de invenție Nr. 4513) și metoda de corecție a spermatogenezei la berbeci în sezonul secundar al reproducerii (Brevet de invenție Nr. 1460).

3. INFLUENȚA PREPARATELOR BIOLOGIC ACTIVE ASUPRA CALITĂȚII SPERMEI

3.1. Rezultatele testării spermei brute prelevate de la berbeci din rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte

Asigurarea progresului genetic determină o acțiune a influenței reproducătorilor de mare valoare zootehnică. În aceste condiții înșămânțarea artificială ca metodă de reproducție permite creșterea intensității de selecție a berbecilor de reproducție și implicit creșterea eficienței efectului selecției, o importanță deosebită în cadrul acestei biotehnologii ocupându-l urmărirea ameliorării efectivelor de ovine prin modificarea potențialului genetic productiv în direcția măririi și îmbunătățirii calității producțiilor de lână-carne-lapte.

Pentru prima dată, au fost determinate cantitatea și calitatea materialului seminal brut preluat de la berbeci-reproducători din rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte. Experimentul a fost organizat în condițiile fermei de ovine STE „Maximovca”, conform schemei Nr. 1 din figura 3.1.

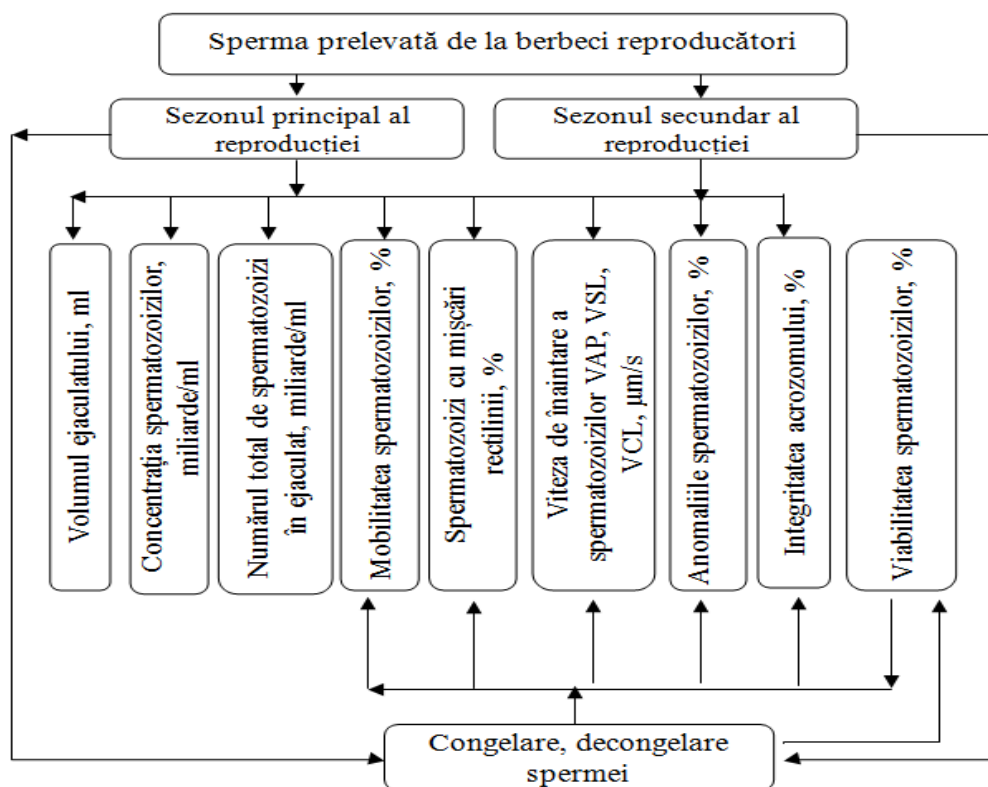


Figura 3.1. Schema experimentală Nr. 1. Spermograma la berbeci-reproducători

Indicii cantitativi și calitativi ai spermei brute prelevată de la berbeci-reproducători este prezentată în tabelul 3.1.

Tabelul 3.1. Indicii spermatici la berbeci (n=40)

Specificare	Unitatea de măsură	Indicii statistici				
		M±m	σ	Cv%	Vmin	Vmax
Volum	ml	1,25±0,06	0,40	31,99	0,8	2,0
Mobilitatea	%	83,1±1,2	7,58	9,13	64,0	98,0
Mișcări rectilinii	%	40,5±1,0	6,16	15,22	29,0	55,0
Concentrația spermatozoizilor	mlrd/ml	2,19±0,07	0,44	20,24	1,15	2,94
Spermatozoizi în ejaculat	mlrd	2,74±0,17	1,1	40,17	1,34	5,36
Integritatea acrozomului	%	97,77±0,33	1,27	1,30	95,5	99,5

Volumul mediu al ejaculatului prelevat de la berbeci-reproducători este de 1,25±0,06 ml, cu diferențe individuale de la 0,8 ml până la 2,0 ml. Concentrația medie a spermatozoizilor din ejaculate a fost de 2,19±0,07 mlrd/ml cu o variație de la 1,15 până la 2,94 mlrd/ml, indici care se încadrează în normele fiziologice.

Calitatea spermei brute este apreciată și după mobilitatea spermatozoizilor din ejaculat. Cercetările efectuate au demonstrat că, mobilitatea medie a spermatozoizilor a fost de 83,1±1,2% cu variații de la 64 până la 98%, indici care corespund standardului rasei.

Numărul total de spermatozoizi din ejaculat a fost de $2,74 \pm 0,17$ mlrd/ml cu variabilitate de la 1,34 la 5,36 mlrd de spermatozoizi.

Analiza spermatozoizilor din ejaculat asupra integrității acrozomului a demonstrat valori de $97,77 \pm 0,33\%$ cu variații de la 95,5 până la 99,5%.

Rezultatele cercetărilor experimentale efectuate privind anomaliile spermatozoizilor din ejaculatele preluate de la berbeci din rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte sunt prezentate în tabelul 3.2.

Tabelul 3.2. Anomalii ale spermatozoizilor (n=22)

Indicii	Indicii statistici				
	M±m	σ	Cv%	Vmin	Vmax
Cap	1,70±0,19	0,72	42,460	0,5	3,5
Gât	2,77±0,19	0,75	26,978	1,5	4,0
Coadă	3,68±0,23	0,90	24,329	2,0	5,5

Anomaliile minime au fost depistate la capul spermatozoizilor – $1,70 \pm 0,19\%$ cu variații de la 0,5 până la 3,5%, iar cele maxime au fost înregistrate la coada spermatozoizilor – $3,68 \pm 0,23\%$ cu variații de la 2,0 la 5,5%, iar în regiunea gâtului spermatozoidului $2,77 \pm 0,19\%$, cu variații de la 1,5 la 4,30%. Datele experimentale obținute se încadrează în cerințele stipulate în ȚOCT-3200-2013 conform căruia numărul de spermatozoizi cu anomalii morfologice nu trebuie să depășească 18%.

S-au efectuat cercetări și privind viteza de înaintare a spermatozoizilor VAP (viteza medie), VSL (viteza spermatozoizilor cu mișcări rectilinii) și VCL (viteza de înaintare a spermatozoizilor cu mișcări rotative). Rezultatele sunt prezentate în tabelul 3.3.

Tabelul 3.3. Viteza de înaintare a spermatozoizilor (n=40), $\mu\text{m/s}$

Indici	Indicii statistici				
	M±m	σ	Cv%	Vmin	Vmax
VAP	119,0±2,7	17,33	14,57	90,0	171,7
VSL	95,6±2,52	15,95	16,69	70,3	121,3
VCL	176,4±4,02	25,41	14,41	136,8	229,1

Cercetările privind viteza de înaintare a spermatozoizilor VAP, care măsoară viteza medie a spermatozoizilor pe un anumit traiectoriu și într-o unitate stabilită de timp au demonstrat că, ea este de $119,9 \pm 2,7 \mu\text{m/s}$ cu variații de la 90,0 până la 171,7 $\mu\text{m/s}$.

Măsurând viteza VSL – viteza medie a spermatozoizilor cu mișcări rectilinii s-a dovedit că este în medie de $95,6 \pm 7,32$ cu variații de la 70,33 la 121,3 $\mu\text{m/s}$.

Cercetările privind aprecierea vitezei de înaintare a spermatozoidelor VCL, care măsoară distanța pe întreg traiectoriu, s-au stabilit următorii indici – $176,4 \pm 4,02 \mu\text{m/s}$ cu variații de la 136,8 la 229,1 $\mu\text{m/s}$ cu un coeficient de variabilitate mediu.

Totodată, s-au efectuat cercetări privind calitatea materialului seminal prelevat de la berbeci-reproducători din rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte, supus crioconservării. Rezultatele experimentale sunt prezentate în figura 3.2.

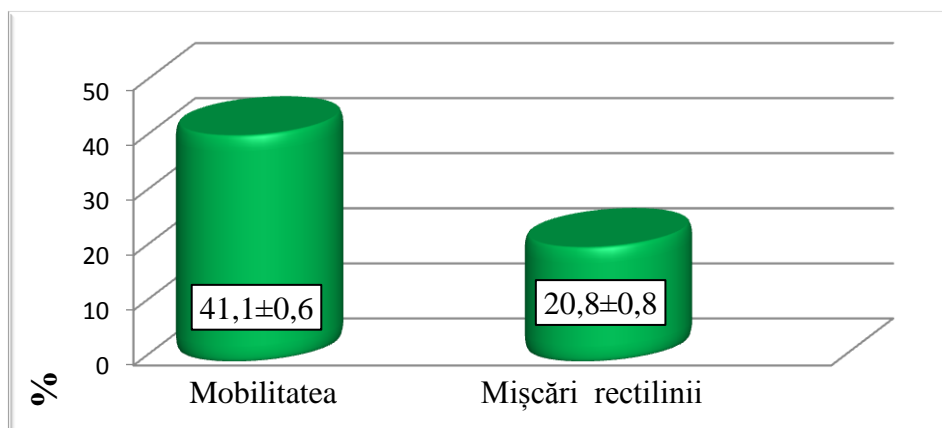


Figura 3.2. Indicii calității spermei supuse crioconservării (n=40), %

Studiul indicilor calității spermei congelate-reanimate au demonstrat că, mobilitatea spermatozoidelor după reanimare a fost de $41,1 \pm 0,6\%$, iar procentul de spermatozoizi cu mișcări rectilinii de $20,8 \pm 0,8\%$, indici care sunt sub nivelul cerințelor pentru sperma crioconservată de berbec.

3.2. Exploatarea pe parcursul întregului an a berbecilor-reproducători

Experimentul 2 s-a realizat conform schemei experimentale Nr. 1 (figura 3.1).

Elaborarea metodelor de crioconservare a spermei de berbec deschide perspectiva colectării, conservării și depozitării spermei pe parcursul întregului an cu scopul folosirii spermei în sezonul principal de reproducție.

În acest scop s-au efectuat studii privind elaborarea metodelor de exploatare a berbecilor-reproducători în sezonul secundar al reproducției, nivelul spermoproducției și calității biologice a spermatozoidelor.

Rezultatele experimentale privind calitatea spermei brute prelevate de la berbeci-reproducători din rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte (Brevet Nr. 3440) sunt prezentate în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4. Caracteristica spermei brute prelevată în sezonul secundar al reproducției (n=25)

Caracteristica ejaculatului	Unitatea de măsură	Indicii statistici			
		M±m	Cv%	Vmin	Vmax
Volum	ml	1,23±0,33	27,09	0,6	1,5
Mobilitatea spermatozoizilor	%	66,24±19,2	19,9	50,0	85,0
Concentrația spermatozoizilor	mlrd/ml	1,33±0,54	35,85	0,630	1,65
Spermatozoizi în ejaculat	mlrd	1,64±0,3	14,53	0,720	2,01

Cercetările efectuate au evidențiat că, în sezonul secundar al reproducției mobilitatea spermatozoizilor în mediu a fost de 66,24±19,2%. Concentrația spermatozoizilor din ejaculat a fost de 1,33±0,54 mlrd/ml, volumul ejaculatului în medie de 1,23±0,33 ml cu intervale de la 0,6 la 1,5 ml, iar numărul total de spermatozoizi din ejaculat de 1,64±0,3 mlrd cu intervale între 0,72 și 2,01 mlrd.

Datele experimentale privind cantitatea și calitatea materialului seminal prelevat de la berbeci-reproducători în sezonul principal de reproducție sunt prezentate în tabelul 3.5.

Cercetările efectuate asupra calității spermei brute prelevate în sezonul principal al reproducției ovinelor au demonstrat că, volumul ejaculatului a fost în medie de 1,38±0,40 ml cu oscilații de la 0,9 la 1,52 ml, cu 0,15 ml mai mare comparativ cu sezonul secundar, mobilitatea spermatozoizilor în medie a fost de 81,17±1,60% cu oscilații de la 73,0 până la 98,0% sau cu 14,53% mai mare comparativ cu sezonul secundar, concentrația spermatozoizilor din ejaculat cu 0,14 mlrd/ml mai mare, iar numărul total de spermatozoizi din ejaculat a fost de 2,03±0,09 mlrd sau cu 0,39 mlrd mai mare comparativ cu sezonul secundar al reproducției.

Tabelul 3.5 Caracteristica spermei în sezonul principal de reproducție (n=25)

Caracteristica ejaculatului	Unitatea de măsură	Indicii statistici			
		M±m	Cv%	Vmin	Vmax
Volum	ml	1,38±0,40	18,01	0,9	1,52
Mobilitatea spermatozoizilor	%	81,17±1,60	18,31	73,0	98,0
Concentrația spermatozoizilor	mlrd/ml	1,47±0,10	32,81	0,683	2,313
Spermatozoizi în ejaculat	mlrd	2,03±0,09	25,97	0,769	2,035

În concluzie, menționăm că rezultatele cercetărilor efectuate pe o perioadă de 4 ani au evidențiat că, atât cantitatea, cât și calitatea materialului seminal prelevat de la berbeci-reproducători de rasa Țigaie tip moldovenesc pentru lână-carne-lapte au demonstrat o tendință de a

se situa la un nivel mai inferior în sezonul secundar de reproducție comparativ cu sezonul principal de reproducție, dar corespund cerințelor minimale pentru acești indicatori.

Au fost efectuate cercetări privind integritatea acrozomului la spermatozoizi din sperma brută prelevată în diferite sezoane de reproducție (tabelul 3.6).

Tabelul 3.6. Integritatea acrozomului la spermatozoizi (n=25), %

Indicii	Indicii statistici			
	M±m	Cv%	Vmin	Vmax
Sezonul principal al reproducției	2,3±0,3	55,33	1,0	5,0
Sezonul secundar al reproducției	2,8±0,4	59,15	1,0	7,0

Rezultate cercetărilor au demonstrat că în sezonul secundar al reproducției procentul de spermatozoizi cu acrozomul deteriorat a fost de 2,8±0,4% sau cu 0,5% mai mare ca în sezonul principal al reproducției. Din literatura de specialitate este cunoscut că, în acrozom se conțin fermenți care perforază membrana pelucidă a ovulei care permite pătrunderea spermatozoidilor în ovul [12], care joacă un rol important în eficiența însămânțării artificiale la ovine.

Rezultatele obținute în rezultatul cercetărilor efectuate și comparate cu rezultatele din literatura de specialitate dovedesc că, există diferențe între numărul de spermatozoizi cu anomalii morfologice în dependență de sezonul de reproducție.

Rezultatele cercetărilor privind studiul spermatozoidilor cu anomalii morfologice este prezentat în tabelul 3.7.

Tabelul 3.7. Anomalii morfologice ale spermatozoidilor (n=25),%

Indicii	Sezonul principal al reproducției	Sezonul secundar al reproducției
Cap	4,2±0,3	5,4±0,3
Gât	4,2±0,4	4,4±0,2
Coadă	4,0±0,3	4,0±0,2
Total	12,4	13,8

Datele experimentale obținute demonstrează că, în sezonul secundar al reproducției, procentul de spermatozoizi cu anomalii în medie a fost de 13,8%, iar în sezonul principal de 12,4%. Cel mai mare procent de spermatozoizi a fost depistat la capul spermatozoidului în sezonul secundar al reproducției 5,4±0,3%.

În condiții de laborator direcția de bază a cercetărilor a fost bazată pe studiul criorezistenței spermatozoidilor prelevați de la berbeci în sezonul secundar al reproducției în procesul congelării-reanimării lor. Totodată, s-au cercetat și indicii calității spermatozoidilor reanimați în dependență de sezonul de reproducție. Datele experimentale sunt prezentate în tabelul 3.8.

Tabelul 3.8 Indicii calitativi a spermei după congelare-reaminare (n=17)

Indicii		Sezonul secundar al reproducției	Sezonul principal al reproducției
Mobilitatea, %		36,8±1,7	48,8±1,5***
Mișcări rectilinii, %		14,7±1,1	24,2±1,2***
Viteza de înaintare, μm/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*

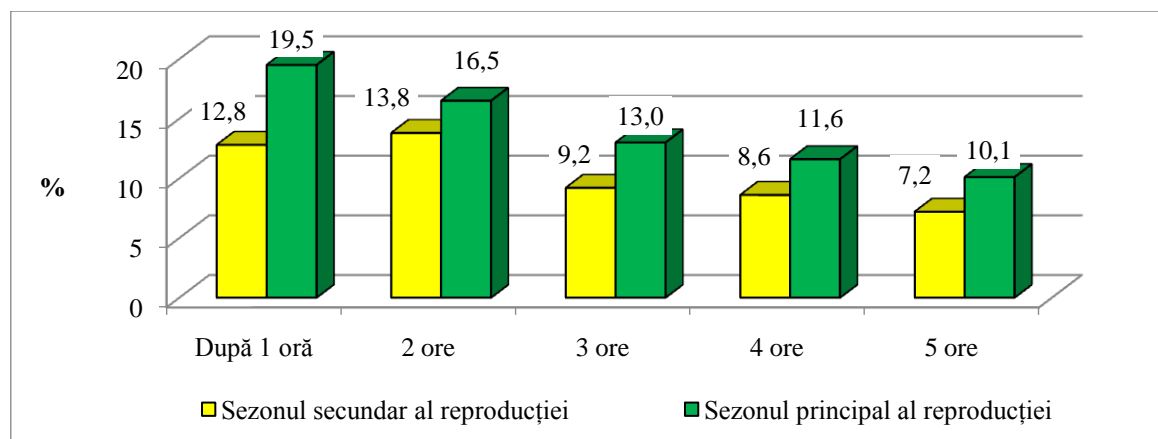
*P≤0,05; ***P≤0,001

Din datele tabelului reiese că, în sezonul secundar al reproducției indicii calitativi a spermei după congelare-reaminare au fost inferiori cu 6% privind mobilitatea spermatozoizilor comparativ cu sezonul principal (P≤0,001). Totodată, au fost depistate diferențe privind procentul de spermatozoizi din ejaculat cu mișcări rectilinii, spermatozoizi care participă nemijlocit la fecundarea ovulelor. Procentul lor în ejaculate prelevate în sezonul principal de reproducție, după congelare-reaminare a spermei, a fost de 24,2±1,2%, iar în sezonul secundar de reproducție acest indice a fost de 14,7±1,1% sau cu 9,5% mai mic (P≤0,001).

Cercetările efectuate au fost bazate pe teoriile clasice din domeniu precum că, viteza de înaintare a spermatozoizilor are o fundamentare că, durata de timp de la depunerea lor în căile genitale female și până spermatozoizii ajung la locul unde are loc fecundarea, influențează rata fecundității.

S-a demonstrat că, viteza de înaintare a spermatozoizilor (VAP, VSL, VCL) în sezonul principal de reproducție este superior sezonului secundar.

În afară de principiile de bază a însămânțărilor artificiale, metoda are și cerințe de bază privind calitatea materialului seminal supus conservării-reaminării și, în principal, asupra procentului de spermatozoizi cu mișcări rectilinii, care nemijlocit participă la procesul de fecundare a ovulelor. Procentul spermatozoizilor cu mișcări rectilinii după congelare-reaminare este prezentat în figura 3.3.

**Fig. 3.3 Spermatozoizi cu mișcări rectilinii după reanimare (n=17), %**

Procentul spermatozoidelor cu mișcări rectilinii în sezonul principal de reproducție a fost de 19,5%, iar în sezonul secundar de 12,8% sau cu 6,7% mai mic. Viabilitatea spermatozoidelor la temperatura de plus 37 grade, pe o durată de 5 ore, a dus la diminuarea procentului de spermatozoidi cu mișcări rectilinii în sezonul principal de reproducție până la 10,1%, iar în sezonul secundar de reproducție până la 7,2%. Rezultatele experimentale obținute ne-au sugerat ideea de a găsi neajunsurile care au dus la diminuarea drastică a viabilității spermatozoidelor prelevați în sezonul secundar de reproducție, și totodată, pentru exploatarea berbecilor-reproducători pe parcursul întregului an este necesară argumetarea științifică, de a perfecționa și a elabora metode mai eficiente privind folosirea fondului genetic al berbecilor- reproducători pentru accelerarea ritmului de ameliorare a ovinelor din Republica Moldova.

3.3. Influența preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 asupra spermatogenezei la berbeci-reproducători

Scopul principal al experimentului a fost studiul privind influența stimulării spermatogenezei la berbeci-reproducători prin folosirea preparatelor biologic active introduse ca component suplimentar în rațiile de bază.

Studiul a fost realizat la ferma de ovine de la STE „Maximovca” conform schemei experimentale Nr. 2 din figura 3.4.

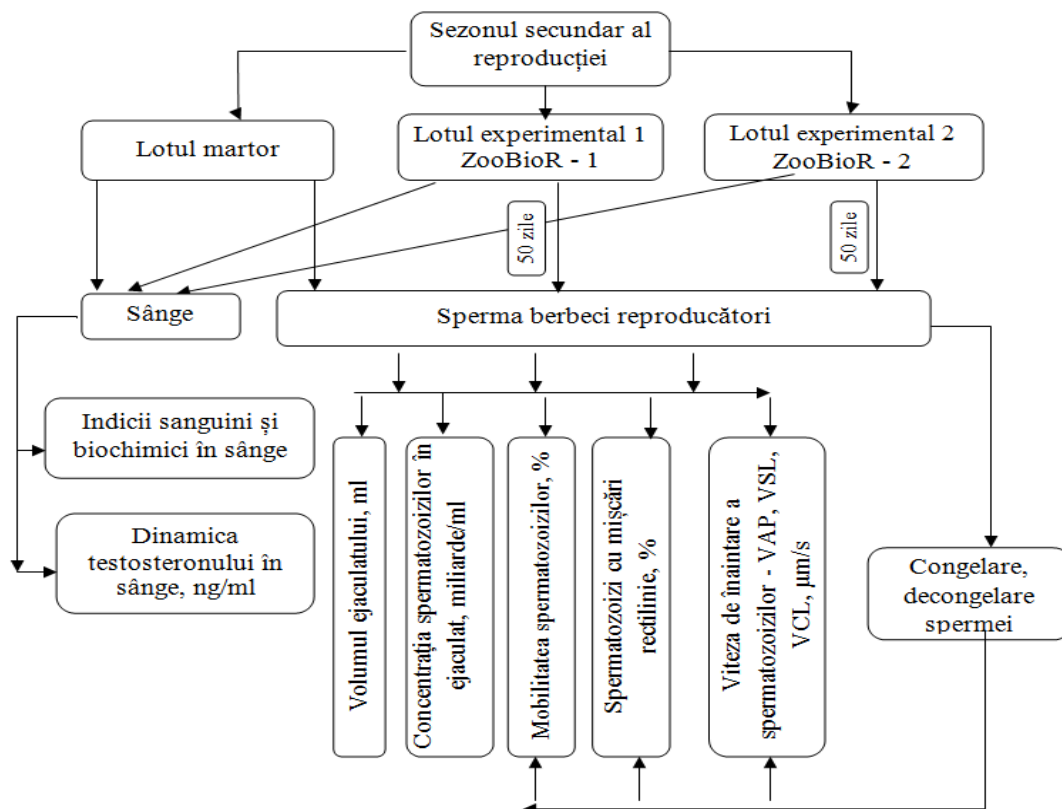


Figura 3.4. Schema experimentală Nr. 2 - Influența preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 asupra spermatogenezei la berbeci

Pentru realizarea scopului propus s-au efectuat cercetări privind studiul efectului preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 obținute din *Spirulina platesis* [7] de Institutul de Microbiologie și Biotehnologii a Universității Tehnice a Moldovei, asupra funcției de reproducție la berbeci-reproducători în sezonul secundar de reproducție.

În cercetări au fost luați berbeci-reproducători cu vârsta de 2-4 ani. Au fost formate 3 loturi de berbeci a câte trei capete – unul martor și două experimentale. Prelevarea spermei de la berbeci s-a efectuat de la fiecare berbec de două ori în săptămână. Indicii cantitativi și calitativi ai spermei brute au fost testați la începutul și sfârșitul experimentului. Berbecilor-reproducători din loturile experimentale luați în studiu, pe parcursul a 50 zile, li s-a administrat câte 5g cap/zi preparat ZooBioR-1 și ZooBioR-2. Rezistența spermatozoizilor la congelare s-a efectuat studiind mobilitatea spermatozoizilor după reanimare. Rezultatele experimentale sunt prezentate în figura 3.5.

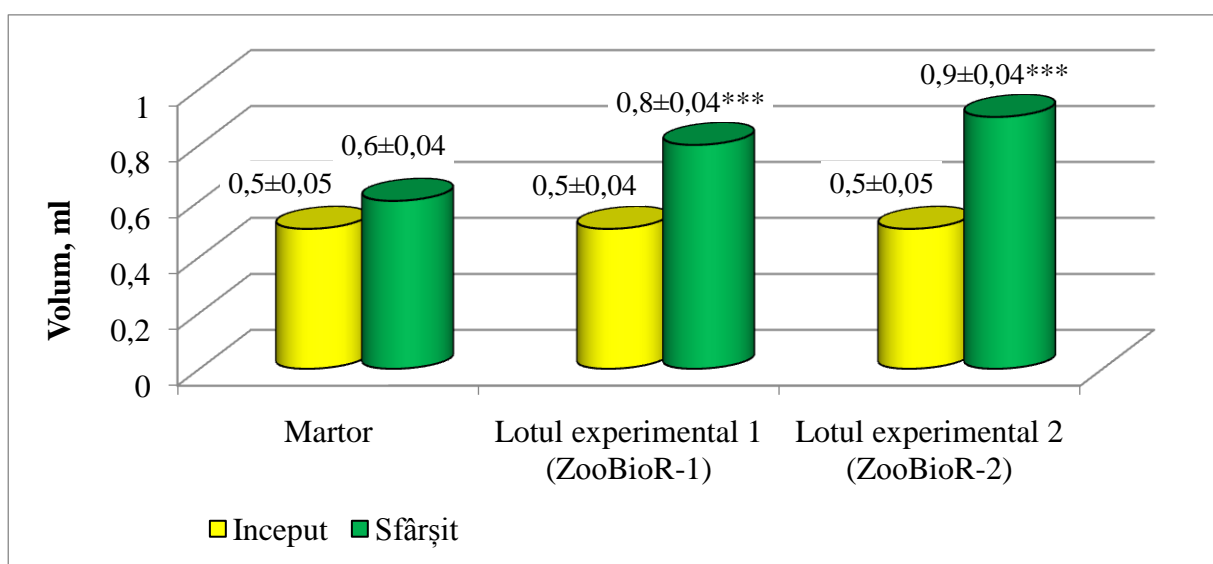


Figura 3.5. Dinamica volumului ejaculatului (n=24), ml

După 50 de zile de administrare a preparatului ZooBioR-1 la berbecii din lotul experimental 1, volumul ejaculatului s-a majorat cu 0,3 ml ($P \leq 0,001$), comparativ cu începutul experimentului.

La berbecii din lotul experimental 2, cărora li s-a administrat ZooBioR-2 se atestă o majorare de 0,4 ml ($P \leq 0,001$), comparativ cu rezultatul inițial.

La lotul martor se constată doar o tendință de majorare a volumului. Diferențe statistice autentice s-au constatat la loturile experimentale 1 și 2, comparativ cu lotul martor.

Dinamica mobilității spermatozoizilor în perioada experimentului este prezentată în figura 3.6.

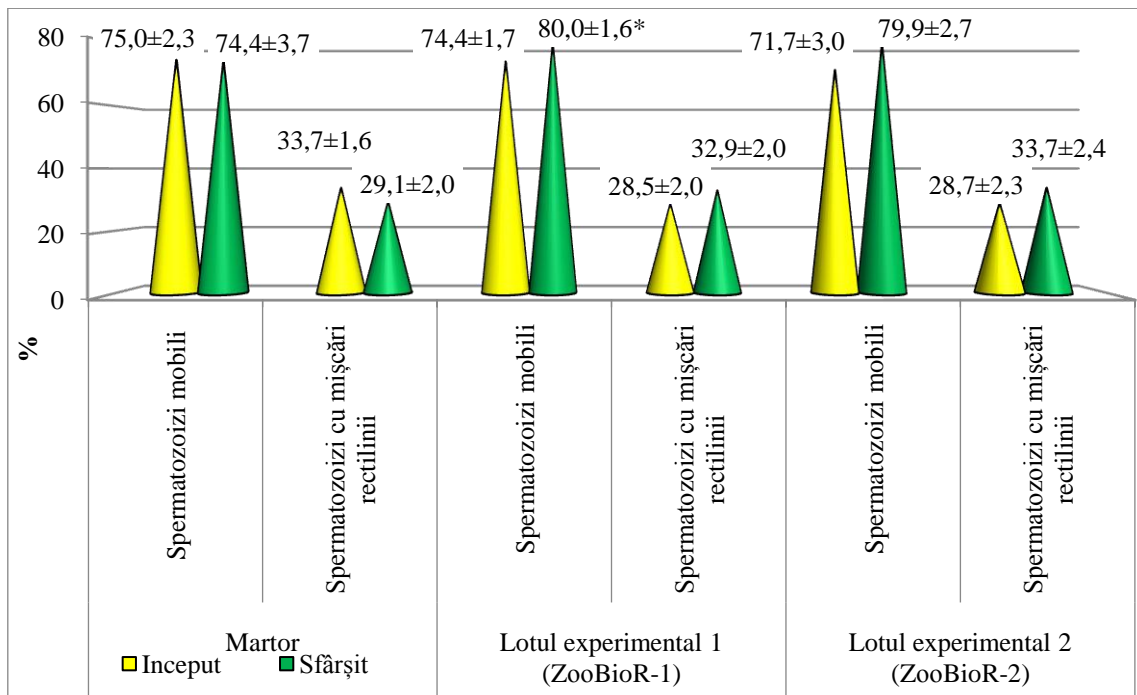


Figura 3.6. Dinamica mobilității spermatozoizilor (n=24), %

Din datele experimentale prezentate în figura 3.6 reiese că mobilitatea spermatozoizilor la începutul experimentului în lotul unu experimental a fost de $71,7 \pm 3,0\%$, în lotul doi experimental de $74,4 \pm 1,7\%$ și în lotul martor de $75,0 \pm 2,3\%$. Diferențele dintre loturile experimentale și lotul martor statistic nu sunt autentice.

La sfârșitul experimentului mobilitatea spermatozoizilor în lotul unu experimental a crescut până la $80,0 \pm 1,6\%$ și la lotul doi experimental până la $79,9 \pm 2,7\%$; în lotul martor mobilitatea spermatozoizilor practic nu s-a schimbat pe durata experimentului.

Concentrația spermatozoizilor este prezentată în figura 3.7.

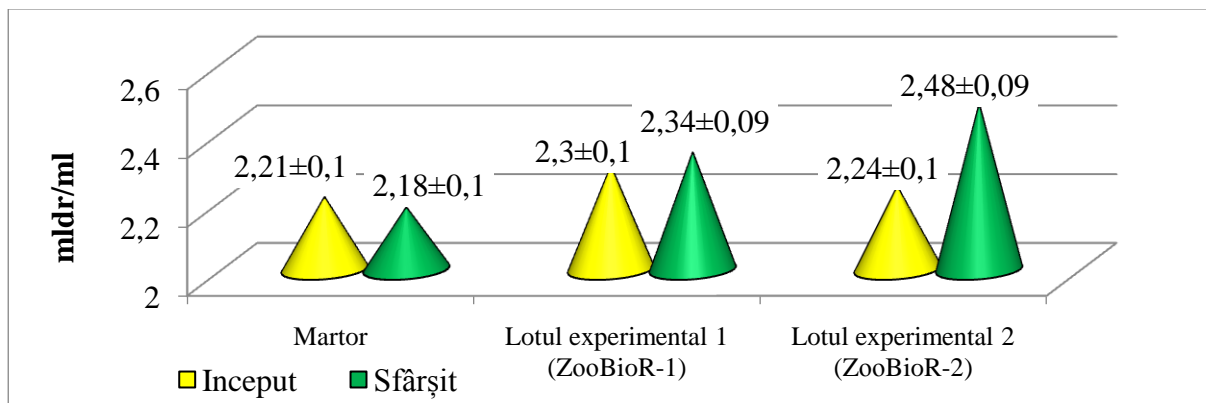


Fig. 3.7. Concentrația spermatozoizilor în ejaculat (n=24), mlrd/ml

Rezultatele experimentale prezentate în figura 3.7. demonstrează că, pe perioada experimentală concentrația spermatozoizilor în ejaculat în primul lot experimental a fost de $2,34 \pm 0,09$ mlrd/ml, în al doilea lot experimental de $2,48 \pm 0,09$ mlrd/ml, s-a majorat cu $0,64$ mlrd/ml și cu $0,24$ mlrd/ml consecutiv, iar în lotul martor nu au avut loc schimbări.

În concluzie, putem menționa că preparatul ZooBioR-1 și ZooBioR-2 a influențat pozitiv asupra spermatogenezei la berbecii-reproducători în sezonul secundar al reproducției. Metoda propusă a fost patentată cu brevet de invenție Nr. 1460.

În altă serie de experiențe s-a studiat efectul exploatării berbecilor-reproducători pe parcursul întregului an prin colectarea, conservarea și depozitarea (-196 °C) spermei criocongelate. Rezultatele experimentale au depistat influența preparatelor biologice active ZooBioR-1 și ZooBioR-2 asupra competitivității spermei la congelare. În figura 3.8. sunt prezentate datele experimentale privind numărul de spermatozoizi mobili în sperma supusă congelării.

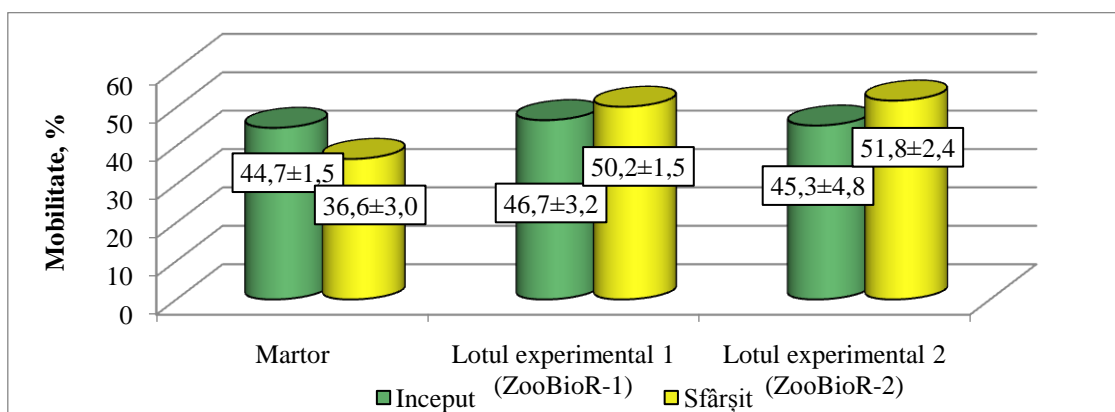


Fig.3.8. Mobilitatea spermatozoizilor după reanimare (n=24), %

Procentul de spermatozoizi vii din sperma supusă congelării și reanimată la +40-42 °C în primul lot experimental a crescut cu 3,5% pe perioada experimentului comparativ cu perioada inițială (46,7±3,2% și 50,2±1,5%).

În lotul doi experimental procentul spermatozoizilor vii a crescut cu 6,5% pe durata experimentului comparativ cu perioada inițială de la 45,3±4,8% până la 51,8±2,4%. În lotul martor mobilitatea spermatozoizilor pe durata experimentului s-a micșorat cu 8,1% sau de la 44,7±1,5% la 36,6±3,0%.

O altă serie de experiențe au fost efectuate privind studiul influenței introducerii în componența rațiilor berbecilor a preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 asupra nivelului testosteronului din sânge la berbeci. La începutul și la sfârșitul experimentului de la toți berbecii luați în studiu au fost prelevate probe de sânge pentru testarea nivelului testosteronului prin metoda ELISA. Datele experimentale sunt prezentate în tabelul 3.9.

Concentrația hormonului testosteron din serul sanguin la berbecii luați în studiu a crescut în loturile experimentale comparativ cu lotul martor (tabelul 3.9.).

Tabelul 3.9. Dinamica testosteronului în serul sanguin

Indicii	Martor		Lotul experimental 1 (ZooBioR-1)		Lotul experimental 2 (ZooBioR-2)	
	Inceput	Sfârșit	Inceput	Sfârșit	Inceput	Sfârșit
Testosteron (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

Rezultatele experimentale demonstrează că, concentrația testosteronului pe perioada experimentală a crescut în lotul unu experimental de la $4,0 \pm 0,1$ ng/ml la începutul experimentului până la $5,7 \pm 0,4$ ng/ml ($P \leq 0,05$) și în lotul doi experimental de la $4,3 \pm 0,4$ ng/ml până la $6,0 \pm 0,1$ ng/ml la sfârșitul experimentului ($P \leq 0,05$).

În baza rezultatelor obținute în acest capitol a fost obținut Brevet de invenție Nr. 1460 - Procedeu de stimulare a spermatogenezei la berbeci în extrasezon.

4. CRIOCONSERVAREA SPERMATOZOIZILOR ȘI CAPACITATEA FECUNDANTĂ A LOR

4.1. Studiul privind influența preparatului BioR introdus ca component suplimentar în mediul de diluție, în procesul crioconservării spermei de berbec

Cercetările au fost efectuate pe sperma prelevată de la berbeci-reproducători, în laboratorul Biotehnologii în Reproducție și Transfer de Embrioni a Institutului Științifico-Practic de Biotehnologii în Zootehnie și Medicină Veterinară.

Studiul acestui experiment a fost realizat conform schemei experimentale Nr. 3 din figura 4.1.

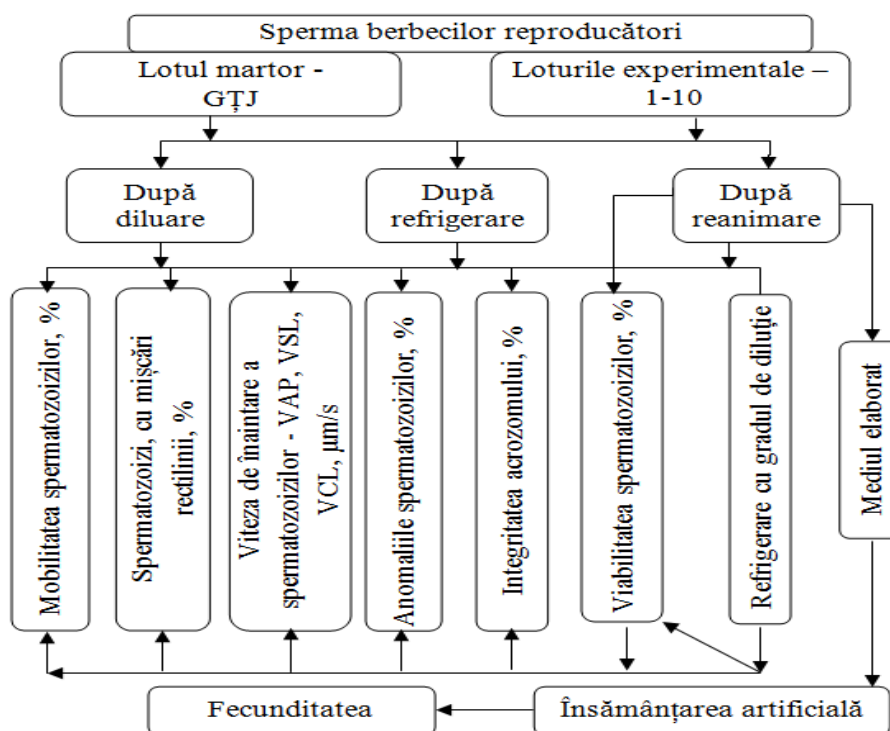


Figura 4.1. Schema experimentală Nr. 3 – Influența preparatului BioR asupra calității materialului seminal crioconservat

Pe scară tot mai largă, în ultimii ani se efectuează cercetări privind perfecționarea și elaborarea noilor medii pentru conservarea materialului seminal prelevat de la berbeci-reproducători

cu scopul păstrării integrității biologice și a capacității fecundante a spermatozoizilor. A fost studiată capacitatea protectoare a preparatului BioR elaborat la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie a Universității Tehnice din Moldova, care are proprietăți de antioxidant, de a stabiliza membranele celulare [8].

În cercetările noastre preparatul BioR a fost introdus ca component suplimentar în mediul de diluție GȚJ (glucoză, citrat de sodiu, gălbenuș de ou) în concentrație de la 0,1 până la 1,0 %/V.

Mobilitatea spermatozoizilor în procesul de crioconservare a spermei diluate cu GȚJ în componența căreia ca component suplimentar a fost introdus preparatul BioR, este prezentat în tabelul 4.1.

Tabelul 4.1. Influența preparatului BioR asupra mobilității spermatozoizilor (n=12),%

Specificare		După diluare:	Dupa refrigerare:	Dupa reanimare:
Martor GȚJ		88,7±2,8	83,0±3,5	30,5±4,5
Lotul experimental	1	0,1	85,3±5,2	47,0±15,0
	2	0,2	88,0±1,7	49,0±5,5
	3	0,3	84,0±9,5	36,3±9,1
	4	0,4	92,3±1,9	41,0±5,0
	5	0,5	83,7±6,4	48,0±7,0
	6	0,6	88,7±3,7	62,0±2,9**
	7	0,7	91,0±1,7	55,0±8,0
	8	0,8	85,0±5,6	53,3±4,5*
	9	0,9	90,7±1,8	57,0±8,0
	10	1,0	87,3±8,2	60,0±2,6*

*P<0,05; **P<0,01

Mobilitatea spermatozoizilor după diluare cu mediile, în componența cărora a fost introdus preparatul BioR în concentrație de la 0,1 până la 1,0%, a fost practic de aceeași valoare atât în loturile experimentale cât și în lotul martor de la 83,7±6,4 până la 92,3±1,9%. În concluzie, preparatul BioR nu este toxic pentru spermatozoizi în diapazonul concentrațiilor studiate.

După reanimare în loturile experimentale, precum și în lotul martor au avut loc diminuări drastice a mobilității spermatozoizilor. Cele mai bune rezultate a mobilității au fost obținute în lotul experimental 6, în care concentrația preparatului BioR introdus ca component suplimentar în mediu de diluție a fost de 0,6% - 62,0±2,9%.

În continuare au fost efectuate cercetări privind influența preparatului BioR, introdus ca component suplimentar în componența mediului GȚJ, asupra viabilității spermatozoizilor după reanimare la temperatura de +37 °C. Datele experimentale sunt prezentate în tabelul 4.2.

Tabelul 4.2. Influența preparatului BioR asupra viabilității spermatozoizilor după reanimare (n=12), %

Specificare		După reanimare	Mobilitatea după:					
			1 oră	2 ore	3 ore	4 ore	5 ore	
Specificare		30,5±4,5	29,0±3,2	25,5±1,3	24,7±2,6	118,0±1,5	15,3±1,9	
Lotul experimental	Concentrația BioR (%) în mediul de diluție GTJ	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 (comparativ cu martor)

Stocarea spermei reanimată la temperatura de +37 °C a dus la diminuarea mobilității spermatozoizilor. După 5 ore de stocare la temperatura de +37 °C, în loturile experimentale 6 și 7, mobilitatea spermatozoizilor a fost mai mare (P≤0,5), comparativ cu lotul martor.

Apreciind integritatea acrozomului s-a depistat că, în sperma reanimată un număr mare de spermatozoizi au diferite deteriorări structurale ale membranei acrozomului.

Studiul integrității acrozomului în procesul crioconservării spermei este prezentat în figura 4.2.

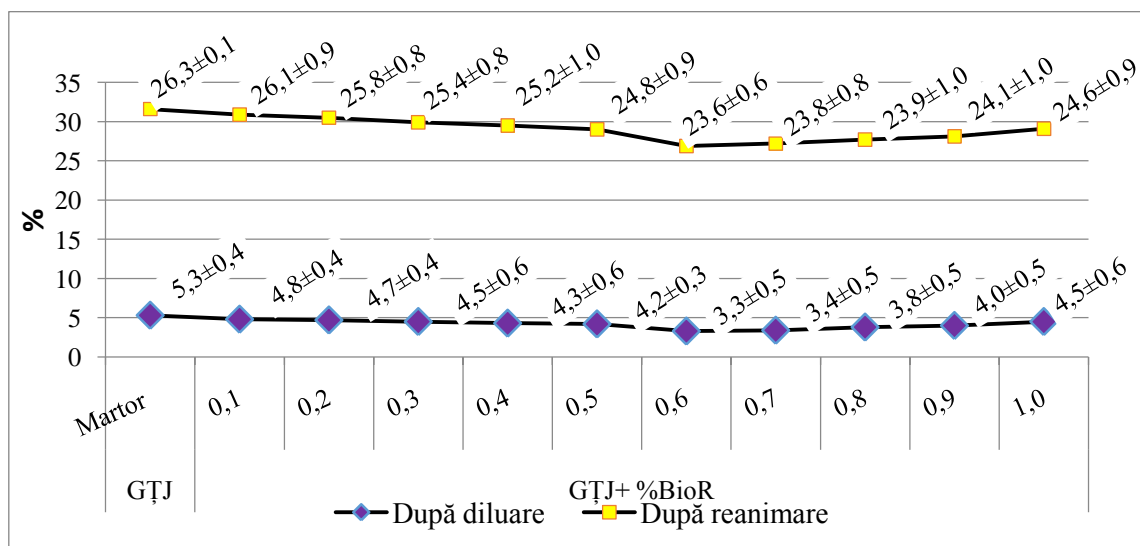


Figura 4.2. Influența preparatului BioR asupra integrității acrozomului (n=12), %

Datele experimentale demonstrează că, cele mai accentuate deteriorări a spermatozoizilor au avut loc încă în perioada pregătitoare, înainte de procesul de congelare. În spermă după diluare numai 5% spermatozoizi aveau acrozomul deteriorat. După refrigerare acest indice s-a mărit

nesemnificativ, iar după crioconservare și reanimare acest indice s-a mărit până la 24-26%. Este necesar de menționat că, cele mai bune rezultate au fost obținute când suplimentar în mediile de diluție a fost introdus preparatul BioR în concentrație de 0,6-0,7%/V ($23,6 \pm 0,6$ și $23,8 \pm 0,8\%$).

S-au efectuat cercetări și privind influența preparatului BioR asupra calității spermei supuse refrigerării (+2-4 °C) și procesului de crioconservare. Datele experimentale privind studiul duratei de refrigerare a spermei diluate cu mediul GȚJ în componența căruia ca component suplimentar s-a introdus preparatul BioR, în diferite concentrații și proporții de diluție, sunt prezentate în figura 4.3.

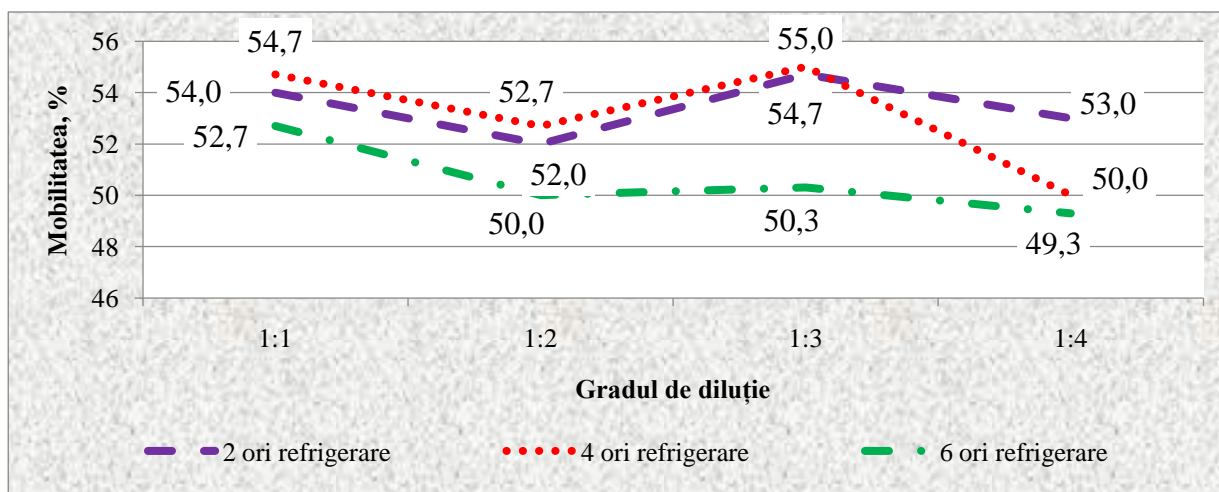


Fig.4.3. Dinamica mobilității spermatozoidelor după reanimare (n=12), %

Rezultatele experimentale obținute demonstrează că, refrigerarea spermei diluate pe o perioadă de 6 ore, înaintea procesului de crioconservare, a diminuat mobilitatea spermatozoidelor după reanimare, indiferent de proporțiile diluării. Cei mai buni indici a mobilității spermatozoidelor, după reanimare, au fost obținuți când sperma a fost diluată în proporție de 1:3 și o durată de refrigerare înaintea congelării de 2 și 4 ore.

În baza datelor experimentale obținute putem concluziona că, sperma diluată cu mediul GȚJ, în componența căruia ca component suplimentar a fost introdus preparatul BioR în concentrație de 0,6-0,7%, perioada de refrigerare, înainte de congelare, poate fi redusă până la 2 ore, fără a diminua mobilitatea spermatozoidelor, comparativ cu metoda clasică de crioconservare a spermei, unde durata de refrigerare este de 6 ore.

Datele experimentale și rezultatele obținute ne-au permis să elaborăm un mediu eficient pentru diluarea și crioconservarea materialului seminal de berbec (brevet de invenție Nr. 4513) cu următoarea componență:

- | | |
|---------------------------------|---------------------------------|
| Glucoză – 0,8 g | Glicerină -7%/V |
| Citrat de sodiu – 2,8 g | BioR (5 mg/ml) – 0,6%/V |
| Gălbenuș de ou de găină – 20%/V | Apă distilată – până la 100 ml. |
| Antibiotice – 50 mii U.I. | |

În perioada anilor 2016-2022, folosind mediul elaborat destinat tehnologiei de crioconservare a materialului seminal prelevat de la berbeci-reproducători, s-au congelat și transmis în banca genetică 2403 doze de material seminal, admis pentru însămânțarea artificială a oilor.

Mediul elaborat a fost experimentat în practica însămânțărilor artificiale a ovinelor. Cercetările s-au efectuat la ferma de ovine STE „Maximovca”, s. Maximovca, r-nul Anenii Noi. Datele experimentale sunt prezentate în tabelul 4.3.

Tabelul 4.3. Rezultatele însămânțării artificiale a ovinelor

Au fost însămânțate	Au repetat căldurile		Au stat gestante	
cap.	cap.	%	cap.	%
67	35	52,2	32	47,8

Rezultatele experimentale prezentate în tabelul 4.3. demonstrează că, însămânțările artificiale a ovinelor cu sperma diluată și congelată cu mediul de diluție elaborat a permis de a obține o fecunditate a oilor de 47,8%.

CONCLUZII GENERALE

1. Prin cercetări s-a dovedit că, deteriorarea spermatozoizilor se majorează în procesul diluării, refrigerării, congelării și reanimării, care provoacă deteriorări structurale a acrozomului și membranelor plasmatică a spermatozoizilor și diminuarea capacității fecundante a spermei crioconservate.

2. Diluarea materialului seminal cu mediul elaborat, în componența căruia ca component suplimentar a fost introdus preparatul BioR în concentrație de 0,6%/V (Brevet de invenție Nr. 4513), mobilitatea spermatozoizilor după reanimare s-a menținut la un nivel ridicat- $62,0 \pm 2,9\%$ ($P \leq 0,01$), comparativ cu lotul martor.

3. Diluarea și conservarea spermei cu mediul elaborat, procentul de spermatozoizi cu anomalii morfologice la cap a fost mai mic ($P \leq 0,01$) comparativ cu lotul martor. În segmentul cozii procentul spermatozoizilor a fost mai mic ($P \leq 0,05$), iar în segmentul gâtului spermatozoidului nu s-au înregistrat diferențe comparativ cu lotul martor.

4. Preparatele ZooBioR-1 și ZooBioR-2 au influențat pozitiv asupra calității ejaculatele prelevate de la berbeci-reproducători în sezonul secundar al reproducției; volumul ejaculatului a fost de $0,8 \pm 0,04$ ml ($P \leq 0,001$), mobilitatea spermatozoizilor s-a majorat până la $80,0 \pm 1,6\%$, concentrația spermatozoizilor în ejaculat s-a majorat până la $2,34 \pm 0,09$ ml/dr/ml, concentrația testosteronului din sânge s-a majorat până la $6,0 \pm 0,1$ ng/ml, care corespund cerințelor față de ejaculatele admise pentru prelucrare (Brevet de invenție Nr. 1460).

5. Mediul de diluție a spermei de berbec, mai bine, comparativ cu mediile propuse pentru aceasta tehnică, protejează spermatozoizii împotriva deteriorării acrozomului și a membranelor biologice, permite și păstrarea integrității funcționale a spermatozoizilor. Fecunditatea oilor însămnâțate artificial cu sperma crioconservată cu folosirea mediului elaborat a permis obținerea a 47% fecunditate (Brevet de invenție Nr. 4513).

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Pentru eficientizarea metodei privind însămnâțările artificiale la ovine se propune crearea băncii genetice de spermă congelată prelevată de la berbeci-reproducători testați după calitatea descendenței pe parcursul întregului an, ceea ce va permite accelerarea procesului de ameliorare a efectivului de ovine din țară.

2. Rezultatele cercetărilor științifice confirmă eficacitatea implementării mediului sintetic elaborat, în componența căruia ca component suplimentar se introduce preparatul BioR, destinat diluării și crioconservării spermei prelevate de la berbeci-reproducători, totodată sunt necesare cercetări fundamentale privind sporirea nivelului de protejare împotriva șocului termic în procesul crioconservării și reanimării spermatozoizilor.

3. Pentru stimularea spermatogenezei la berbeci-reproducători în sezonul secundar de reproducție se recomandă folosirea preparatelor ZooBioR-1 și ZooBioR-2 care garantează recoltarea ejaculatelor de bună calitate, admise pentru prelucrare, în scopul creării băncii genetice prelevată de la berbeci de elită din rase autohtone, de import și pe cale de dispariție și folosirea rațională a fondului genetic.

BIBLIOGRAFIA

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 Tigaie rams belonging to the mountain ecotype. *Bulletin 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 spermiogenesis 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
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.

LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

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

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

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

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 научных трудов СКНИИЖ по материалам 9-ой международной научно-практической конференции*. 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 highei education in Iasi, October, 20 th - 22 nd, 2016*, Iasi-Rominia, 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

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

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

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*

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

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

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

**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

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

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

**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 Tsigai 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.

BRADU NINA

**INFLUENȚA PREPARATULUI BioR ASUPRA
CRIOCONSERVĂRII SPERMEI DE BERBEC**

421.01 – Ameliorarea și biotehnologia reproducerii animalelor

Rezumatul tezei de doctor în științe agricole

Aprobat spere tipar: 26.07.2023	Formatul hârtiei 60x84 1/16
Hârtie ofset. Tipar digital.	Tiraj 30 ex.
Coli de tipar: 2,0	Comanda nr. 1