



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPDSRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

REZUMAT

Cuvinte cheie: taur, fragmentare ADN spermatic, citometrie în flux continuu, CASA.

Teza de doctorat intitulată **„Cercetări comparative privind evaluarea biologică a spermei de taur din rasele pentru carne și lapte”** a fost elaborată în cadrul Școlii Doctorale a Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași, ca parte a proiectului Perfecționarea și dezvoltarea resurselor umane pentru cercetare și inovare prin școala doctorală, POSDRU/CPP107/DMI1.5/S/77222, în cadrul Programului Operațional Sectorial pentru Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 -2013.

Teza cuprinde 228 pagini și conform normativelor aflate în vigoare la ora actuală, este constituită din două părți principale. Pentru realizarea acesteia s-a utilizat ca sursă de informare și documentare un număr de 254 titluri bibliografice din literatura de specialitate din țară și din străinătate referitoare la subiectul tezei, informații ce au fost folosite ulterior pentru interpretarea datelor obținute în partea a doua. . Datele prezentate sunt susținute de 63 figuri și 27 de tabele.

Originalitatea cercetărilor constă în utilizarea unor tehnologii de ultimă generație pentru evaluarea obiectivă, precisă și rapidă a valorii biologice a materialului seminal. De asemenea, cercetările au avut ca obiectiv testarea unei metode biomimetice de selecție – centrifugare în simplu strat - a spermatozoizilor pentru a observa măsura în care această tehnologie ar putea fi implementată în practica de laborator.

Prima parte, intitulată „Studiul actual al cunoașterii”, este structurată în 3 capitole (42 de pagini), ce prezintă date din literatura de specialitate referitoare la morfologia și fiziologia aparatului reproducător la taur, metode de recoltare a materialului seminal, precum și la evaluarea valorii biologice a materialului seminal de taur prin metode convenționale și metode speciale.

Partea a doua, intitulată „Cercetări proprii”, se desfășoară pe un număr de 119 pagini și este structurată în 9 capitole, în care se prezintă scopul și importanța cercetărilor, materialele și metodele de lucru, rezultatele obținute în urma analizelor efectuate și discuțiile aferente precum și concluziile generale și recomandările practice.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLOASRII



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

În conținutul tezei se regăsesc date proprii publicate în lucrările științifice susținute în cadrul Simpozioanelor organizate de Facultatea de Medicină Veterinară Iași, manifestări științifice internaționale și reviste de specialitate cu indexate Thomson-Reuters.

În primul capitol din partea a doua a, intitulat “*SCOPUL SI OBIECTIVELE TEZEI*” sunt prezentate obiectivele cercetării și anume:

- Stabilirea importanței utilizării unor tehnici speciale de evaluare a materialului seminal în vederea obținerii de informații obiective referitoare la valoarea biologică a materialului seminal de taur congelat, provenit de la tauri din rasele pentru carne și lapte;
- Determinarea indicelui de fragmentare al ADN-ului prin 3 metode diferite (colorația pe bază de albuș de toluidină; kitul Halomax Bos-Taurus; SCSA-citometrie în flux continuu) și stabilirea importanței acestui parametru la evaluarea materialului seminal;
- Evaluarea influenței unor factorii de mediu asupra valorilor parametrilor spermogramei criobiologice la taur;
- Evaluarea mobilității spermatice prin analiză asistată de calculator (CASA) și a concentrației utilizând echipamentul Nucleocounter SP-100;
- Determinarea corelațiilor existente între diferiți parametri ai spermei congelate de taur și fertilitatea la vaci, exprimată ca rată de non-return la 60 de zile;
- Determinarea unor posibile corelații între parametri uzuali ai spermogramei uzuale (morfologie, mobilitate, viabilitate) și integritatea cromatinei spermatice;
- Evaluarea valorii biologice a spermei taurilor din rase pentru carne și lapte prin determinarea unor parametri spermatici funcționali (integritate membranară, integritatea acrozomului; evaluarea stresului oxidativ) utilizând citometrie în flux continuu;
- Implementarea unor tehnologii biomimetice de ultima generație (centrifugarea în simplu strat) în vederea îmbunătățirii calității materialului seminal de taur;

Obiectivul capitolului V. *CAPITOLUL V. EVALUAREA PRIN CITOFUOROMETRIE IN FLUX CONTINUU A INFLUENȚEI UNOR FACTORI DE MEDIU ASUPRA VALORII BIOLOGICE A SPERMEI DE TAUR* a fost de a analiza parametri spermogramei unor tauri donatori utilizați în programele de I.A utilizând fluorocitometrie, o tehnologie de ultimă generație,



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLOSDRII



Fondul Social European
PRIORITATEA 1 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

care să permită evaluarea dinamicii sezoniere a valorii biologice a spermei de taur într-o manieră obiectivă și nu în ultimul rând, rapidă.

În vederea realizării cercetărilor a fost utilizat material seminal congelat, provenit de la tauri dintr-o unitate de prelucrare a materialului seminal din localitatea Skara, Suedia. Sperma a fost recoltată de la 10 tauri din rasa Alb-Roșu Suedeză, în trei sezoane distincte. Pentru realizarea evaluării valorii biologice a materialului seminal, au fost analizați o serie de parametri spermatici funcționali, utilizând citometrie în flux continuu și diverse combinații de fluorochromi. Astfel, a fost analizată integritatea membranei plasmatică, integritatea membranei acrozomale și structura cromatinei spermatice. De asemenea, a mai fost evaluat potențialul membranei mitocondriale spermatice și stresul oxidativ.

Parametrii climatici zilnici analizați au fost: temperatura (°C), umiditate (%), presiunea atmosferică (hPa) și cantitatea zilnică de lumina vizibilă (minute pe zi). Valorile înregistrate în perioada decembrie 2010 - ianuarie 2012, au fost obținute de la Institutul Meteorologic și Hidrologic Suedez (SMHI).

Integritatea membranară a fost evaluată prin citometrie în flux, folosind colorația pe bază de iodură propidiu și SYBR 14 (Thomas CA, 1997), în timp ce modificările membranei acrozomale au fost evaluate utilizând fluoresceină izotiocianat FITC-PNA și calciu ionofor A23187. Pentru a putea diferenția celule viabile de cele neviabile, la această combinație s-a adăugat iodura de propidium (PI) conform protocolului descris de Watson și Cariese, 2002.

În vederea determinării radicalilor liberi din materialul seminal decongelat, s-a utilizat o combinație de mai mulți fluorocromi. Astfel, pentru detectarea superoxidului de oxigen ($O_2^{\cdot -}$) s-a utilizat Hidroethidine (HE; Molecular Probes, Inc.), iar pentru detectarea peroxidului de hidrogen (H_2O_2) s-a folosit 2', 7'- diacetat diclorodihidro-fluoresceină (DCFDA; Molecular Probes, Inc.). Diferențierea celulelor spermatice vii de cele moarte s-a realizat prin adăugarea, în probe, de Hoechst 33258 (HO).

Pentru evaluarea integrității membranei mitocondriale, materialul seminal a fost diluat cu soluție tampon B pentru a obține o concentrație de aproximativ $2,5 \times 10^6$ spz/mL, iar o cantitate de 300 μ L a fost amestecată cu 1,2 μ L JC-1 (soluție stoc 3 mM) și incubată timp de 40 minute, la 38°C.

Integritatea cromatinei spermatice a fost evaluată cu ajutorul Testului pentru Structura Cromatinei Spermatice (SCSA), dezvoltat de Evenson și col. (1980). Acest test folosește o



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PENGHEMULUI VÂRSTNIC
AMPTSDRII



Fondul Social European
PDRSRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

colorație metacromatică pe bază de acridină oranj (AO), pentru evaluarea susceptibilității acidului dezoxiribonucleic spermatic (ADN-spermatic) la denaturarea acidă indusă. Indicele de fragmentare al ADN-ului (DFI%) este reprezentat de raportul dintre ADN-ul denaturat, simplu catenar (fluorescență roșie) și suma dintre ADN integru, dublu catenar, (verde fluorescent) și ADN-ul denaturat, simplu catenar.

Cercetările noastre au arătat că proporția (%) (medie $\pm$ RMSE) de spermatozoizi vii, morți, respectiv muribunzi a variat între sezoane, o diferență semnificativă ($p < 0.05$) fiind observată între sezonul de primăvară și vară în ceea ce privește proporția de celule spermatice vii. În sezonul de vară s-a înregistrat cel mai mic procent de spermatozoizi vii (41.54%), în timp ce primavara s-a înregistrat cel mai ridicat procent (47.62%). Mai mult decât atât, gradul de fragmentare al ADN-ului spermatic, evaluat cu ajutorul testului de dispersie a cromatinei spermatice (SCSA) a fost cel mai scăzut în primăvară (4.57%), fiind observată o diferență semnificativă din punct de vedere statistic ($p < 0.04$), comparativ cu sezonul de vară, când s-a înregistrat cel mai mare procent de spermatozoizi cu ADN fragmentat (6.4%). Procentul de spermatozoizi vii, H_2O_2 pozitiv înregistrat în sezonul de iarnă (0.08%) a fost mai mic comparativ cu cel observat în sezonul de primăvară (0.33%) și vară (0.13%), acest rezultat putând fi explicat printr-o scădere a activității metabolice pe parcursul sezonului de iarnă.

Cercetările noastre au evidențiat că în sezonul de primăvară, procentul de spermatozoizi vii, cu acrozom reacționat a fost mai mare (0.36) comparativ cu sezonul de iarnă (0.30), acest rezultat fiind o consecință a implicării H_2O_2 în procesul de reacție a acrozomului.

Rezultatele obținute sugerează că un studiu extins, desfășurat pe o perioadă mai lungă de timp, care să include și testarea enzimelor plasmei seminale, este justificat, deoarece evaluarea stresului oxidativ tinde să devină un instrument de prognostic în tehnologia de reproducere asistată.

Obiectivul capitol VI *DINAMICA SEZONIERĂ A TIPARELOR MOBILITĂȚII, MORFOLOGIEI ȘI CONCENTRAȚIEI SPERMATICE LA TAURI DIN RASA ROȘU-ALB SUEDEZĂ UTILIZAȚI ÎN BIOTEHNOLOGIA ÎNSĂMÂNȚĂRILOR ARTIFICALE* se referă la analiza mobilității, concentrației și morfologiei spermatice în cazul spermei congelată provenită de la tauri din rasa Roșu Alb Suedeză, pentru a putea identifica eventuale variații sezoniere ale acestor parametri spermatici și modalitatea în care factorii de mediu ar putea acționa asupra producției și calității materialului seminal.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLASRII



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OPPOSDRU



USAMV Iași

Mobilitatea spermei a fost evaluată prin analiză asistată de calculator (CASA), folosind sistemul SpermVision™ (MiniTüb, Tiefenbach, Germania), iar concentrația spermatică prin intermediul echipamentului Nucleocounter SP-100. În vederea evaluării morfologiei spermatice au fost pregătite frotiuri umede după metoda descrisă de către Barth AD și Oko RJ (1989) folosind tehnică “pană” (Anon, 2010), iar acestea au fost colorate conform protocolului coloratiei Williams.

În cercetările noastre s-a constatat că, cele mai mari valori pentru hiperactivitate au fost observate în timpul iernii (16.38%), atunci când s-au observat valori crescute ale vitezei traiectoriei curbiliniare (VCL) (138.10%) și a amplitudinii capului (ALH) (5.5%) și o scădere a valorii indicelui de linearitate (LIN) (0.34%), în timp ce primăvara, valoarea parametrului ALH a fost mai mică (4.95%), iar valorile medii $\pm$ RMSE ale parametrilor LIN, STR au fost mai mari comparativ cu celelalte sezoane, acest tipar de motilitate fiind caracteristic celulelor spermatice progresive, non-hyperactivate

În studiul de față, cele mai mari valori ale concentrației spermatice s-au înregistrat în sezonul de primăvară (64.78%), fiind observată o diferență semnificativă statistic ($p < 0.05$) comparativ cu sezonul de vară (56.76%).

În urma evaluării morfologiei spermatice prin coloratia Williams-Lagerlöf, nu s-au observat diferențe semnificative statistic între sezoane, în privința procentului de celule spermatice cu morfologie normală, însă cel mai mic procent de spermatozoizi cu morfologie normală a fost înregistrat vara (84%). Procentul de spermatozoizi cu anomalii secundare a fost similar în cele trei sezoane, în timp ce în cazul anomaliilor primare, s-a observat o diferență semnificativă ($p = 0.03$) între sezonul de primăvară ($5 \pm 0.45\%$) și cel de vară ($6.5 \pm 0.45\%$).

În capitolul *VII CORELAȚII ÎNTRE MOBILITATE, MORFOLOGIE, VIABILITATE ȘI INTEGRITATEA CROMATINEI SPERMATICE ÎN CAZUL SPERMEI CONGELATE DE TAUR* au fost investigate posibile corelații între procentul de spermatozoizi cu cromatina deteriorată în cazul spermei congelate de taur utilizând colorația pe baza de albastru de toluidine, și unii parametri ai spermogramei convenționale cum ar fi mobilitatea, viabilitatea și morfologia spermatică.

Pentru cercetări s-au folosit paiete de material seminal conservat prin crioconservare provenite de la 6 tauri din rase destinate atât producției de lapte cât și celei de carne (Holstein, Charolais). Procentul de spermatozoizi viabili, reprezentat de celulele spermatice necolorate a fost



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLOSDRII



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OPSDRU



USAMV Iași

determinat prin observarea frotiului în câmp clar, la magnitudine x 1000. Examenul morfologic a fost realizat utilizând metoda bazată pe eosină-nigrosină, utilizată în analiza de rutină a viabilității spermatozoizilor (Rodríguez-Martínez H., 2000). În vederea evaluării integrității cromatinei spermatozoizilor s-a utilizat colorația pe baza de albastru de toluidină conform protocolului descris de Agarwal și col, 2004.

Materialul seminal crioconservat de la taurii luați în studiu a prezentat un nivel scăzut de spermatozoizi cu cromatină anormală (4.658 ± 1.89), acest parametru fiind corelat negativ cu viabilitatea, procentul mediu $\pm DS$ de spermatozoizi vii fiind de 51.68 ± 9.44 . Procentul de spermatozoizi cu morfologie normală a variat între 83.33% și 91.8%, cu o medie de 87.24 ± 4.89 în timp ce mobilitatea medie înregistrată a fost 40.18 ± 10.33 .

CAPITOLUL VIII. EVALUAREA UNOR MARKERI FUNCȚIONALI AI SPERMEI CONGELATE PROVENITE DE LA TAURI DIN RASELE PENTRU CARNE ȘI LAPTE a avut drept obiectiv analiza spermogramele criobiologice ale taurilor din rase pentru carne și lapte proveniți de la două unități europene de prelucrare a materialului seminal de taur, Viking Genetics, Skara (Suedia) și Centrul Asociației Crescătorilor de Bovine (Estonia), în vederea depistării unor diferențe ale valorii biologice a materialului seminal care ar putea explica variațiile de fertilitate observate în teren.

În vederea evaluării comparative a valorii biologice a spermei de taur s-au utilizat tehnologii de ultimă generație precum citometrie în flux continuu, sistemul CASA și Nucleocounter SP-100, fiind determinați următorii parametri: concentrația în spermatozoizi, mobilitatea spermatică, morfologia spermatică, integritatea membranară, integritatea acrozomului, stresul oxidativ, potențialul mitocondrial, precum și gradul de fragmentare al ADN-ului.

Concentrația medie $\pm$ deviația standard (DV) în cazul taurilor din rasele pentru carne a fost 92.5 ± 22 (milioane/ml), valoare ce a diferit semnificativ ($p < 0.001$) de cea înregistrată în cazul taurilor din rasele pentru lapte, respectiv 54.75 ± 19 milioane/ml. Examenul morfologic a evidențiat o diferență semnificativă statistic ($p < 0.05$) în privința procentului de spermatozoizi cu morfologie normală. În cazul taurilor din rase de lapte, procentul mediu ($\pm DS$) de spermatozoizi cu morfologie normală a fost de $87 \pm 6.2\%$ în timp ce în cazul taurilor de carne, s-au observat $73 \pm 5.34\%$ spermatozoizi cu morfologie normală.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLASATURI



Fondul Social European
PERIOADA 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

Mobilitatea totală medie a fost de $64.92 \pm 12.85\%$ în cazul taurilor din rase de carne, respectiv $59.41 \pm 14\%$ pentru taurii din rase pentru lapte, în timp ce mobilitatea progresivă medie în cazul celor două categorii a fost de $58.56 \pm 12.31\%$, respectiv $55.59 \pm 14.06\%$. La taurii din rase pentru lapte, procentul mediu de spermatozoizi viabili a fost de 45.8 ± 7.6 , în timp ce în cazul taurilor pentru carne s-a înregistrat un procent mai scăzut de spermatozoizi vii ($39.45 \pm 11\%$). În urma evaluării integrității acrozomului, în cazul taurilor din rasele pentru carne s-a observat un procent mediu de spermatozoizi cu acrozom reacționat de $0.47 \pm 0.74\%$, valoarea care a fost diferită din punct de vedere statistic de cea obținută în cazul taurilor din rasele pentru lapte ($0.28 \pm 0.18\%$) ($p < 0.05$). Procentul de spermatozoizi care au prezentat leziuni la nivelul ADN-ului spermatic a fost semnificativ ($p < 0.01$) mai mare în cazul taurilor din rasele pentru carne ($6 \pm 3.3\%$) comparativ cu cei din rasele pentru lapte ($3.77 \pm 1.14\%$).

CAPITOLUL IX. EFECTUL CENTRIFUGĂRII ÎN SIMPLU STRAT ASUPRA CARACTERISTICILOR SPERMEI DECONGELATE DE TAUR a evaluat parametri funcționali ai spermatozoidelor de taur înainte și după separarea prin centrifugare în simplu strat, pe durata unui test de incubație de 6 ore. Centrifugarea coloidală în simplu strat presupune centrifugarea spermei utilizând un substrat coloidal astfel încât, plasma seminală este îndepărtată și este selectată o subpopulație de spermatozoizi cu caracteristici specifice cum ar fi mobilitate, viabilitate, cromatină integră și morfologie normală.

Evaluare calitativă a materialului seminal a fost efectuat la momentul inițial (T_0) și în timpul unui test de incubație de 6 ore (T_6), înainte și după prepararea prin centrifugare coloidală. Pe lângă examinarea convențională, au fost evaluați și alți parametri funcționali precum integritatea acrozomului, potențialul mitocondrial și fragmentarea ADN-ului spermatic.

După 6 ore de incubație, s-a observat o scădere mai accentuată a mobilității progresive în probele de control și mai discretă în cazul celor supuse centrifugării, unde mobilitatea progresivă a variat între $47,8\%$ și $65,8$. Procentul mediu ($\pm$ DS) de spermatozoizi mobili progresivi a fost de aproximativ 18.8% în probele de control, un procent mai mare ($p < 0.001$) de spermatozoizi mobili progresivi fiind observat în probele selectate prin CSS (47.8%). procentul de spermatozoizi cu ADN deteriorat a crescut pe durata testului de incubație, variind între 8.5 și 12.6 , cu o valoare medie de 10.2 în probele ce nu au fost selectate prin CSS. Centrifugarea în simplu strat a selecționat spermatozoizi mobili, cu membrana plasmatică integră, activitate respiratorie ridicată și un grad de fragmentare al ADN-ului redus comparativ cu esanțioanele martor. Caracteristicile



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLASATURI



Fondul Social European
PERIOADA 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

spermei au fost menținute pe parcursul testului de incubare, prelungind astfel longevitatea spermatozoizilor, diferențele semnificative între probele control și cele selectate prin CSS fiind mai evidente după 6 ore de incubare.

CAPITOLULUI X CORELAȚII PRIVIND VALOAREA BIOLOGICĂ A SPERMEI DE TAUR ȘI FERTILITATEA LA VACI a permis evaluarea diferiților parametri spermatici funcționali prin tehnologii moderne (citometrie în flux continuu, CASA) în cazul taurilor din rase pentru carne și lapte în vederea studierii unor posibile corelații ale acestor parametri cu fertilitatea la vaci, exprimată prin coeficientul de non-return la 60 de zile.

Au fost însemănțate artificial un număr total de 9733 femele din rase pentru carne, din care 8397 vaci și 1009 junici și 3844 femele din rase pentru lapte, din care 3113 vaci și 731 junici (Tabel 9.1). Rata de non return medie a fost de 61.22% în cazul taurilor din rase pentru carne și 67.37% în cazul taurilor din rase pentru lapte.

În cazul taurilor din rase pentru carne, media $\pm$ DS a mobilității totale a fost de $64.93 \pm 5.61\%$, iar procentul mediu de spermatozoizi progresivi a fost de $58.82 \pm 4.32\%$. S-au observat corelații pozitive între rata de non-return (NRR) și procentul de spermatozoizi progresivi ($r=0.214$; $p<0.05$), respectiv viteza curbilinie medie (VCL) ($r=0.247$; $p<0.05$) și indicele de oscilație (WOB), ($r=0.588$; $p<0.05$).

În cazul taurilor din rase pentru lapte, mobilitatea totală a înregistrat o valoare de $52.12 \pm 3.87\%$, inferioară, comparativ cu cea înregistrată în cazul taurilor din rase pentru carne. S-au observat corelații pozitive între rata de non-return (NRR) și procentul de spermatozoizi hiperactivi ($r=0.275$; $p<0.05$), respectiv mobili ($r=0.260$; $p<0.05$) și progresivi ($r=0.458$; $p<0.05$). În cercetările noastre, procentul de spermatozoizi cu activitate mitocondrială ridicată a înregistrat valori medii de $12.01 \pm 2.33\%$ în cazul taurilor din rase de carne, în timp ce în cazul taurilor de lapte valoarea acestui parametru a fost net superioară ($47.25 \pm 2.65\%$). Pentru ambele categorii de tauri s-au observat corelații între coeficientul de NRR și procentul de spermatozoizi cu activitate respiratorie ridicată, ceea ce demonstrează că există o stransă legătură între activitatea mitocondrială a spermatozoizilor și fertilitate.

La taurii din rase pentru carne, s-a înregistrat un coeficient de corelație, $r=-0.415$ ($p<0.05$), între rata de non-return și indicele de fragmentare al ADN-ului (Tabel 10.6), în timp ce în cazul taurilor de lapte, coeficientul de corelație a fost superior ($r=-0.890$, $p<0.05$).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLASAT



Fondul Social European
PERIOADA 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

Obiectivele cercetarilor prezentate în *CAPITOLUL XI. CORELAȚII PRIVIND UNELE CARACTERISTICI MORFOLOGICE ALE SPERMATOZOIZILOR CRIOCONSERVAȚI DE TAUR ȘI FERTILITATEA LA VACI* au fost orientate spre aprecierea variației lungimii piesei intermediare la taurii din rasele de lapte și carne și posibile corelații cu alți parametri spermatici funcționali cum ar fi mobilitatea spermatică și potențialul mitocondrial precum și influența pe care această variație o poate avea asupra fertilității taurilor, exprimată prin rata de non-return la 60 de zile în cazul femelelor inseminate artificial cu material seminal crioconservat.

Pentru efectuarea studiului s-a utilizat material seminal crioconservat de la 4 rase diferite: Rosu Alb Suedeza (5 tauri), care a reprezentat categoria taurilor de lapte respectiv Charolais (3 tauri), Limousin (6 tauri), Simmental (2 tauri), care au reprezentat categoria taurilor de carne. Froiturile cu material seminal au fost colorate prin colorația Williams, iar înainte de efectuarea măsurătorilor piesei intermediare, imaginea digitală a fost mărită până la un nivel care să permită o diferențiere clară a piesei intermediare de piesă principală.

Valoarea medie $\pm$ DS (deviația standard) a lungimii piesei intermediare a fost de $13.66 \pm 0.37 \mu\text{m}$ în cazul taurilor pentru carne, în timp ce în cazul taurilor din rasele de lapte, lungimea piesei intermediare a spermatozoizilor a fost de $13.33 \pm 0.29 \mu\text{m}$.

În cazul taurilor din rase de carne, rata de non-return medie totală a fost de 65.49%, inferioară celei înregistrate în cazul taurilor rase pentru lapte (67.37%). S-a observat un coeficient de corelație pozitiv ($r=0.691$) între rata de non return și lungimea piesei intermediare a spermatozoizilor de la taurii din rase pentru lapte și $R=0.56$ la taurii din rase pentru carne, indicând astfel că pe măsură ce lungimea piesei intermediare este mai mare, ar putea crește și valoarea ratei de non-return.

Inter-relațiile care există între activitatea mitocondrială, mobilitate și lungimea piesei intermediare au fost confirmate de existența unei corelații pozitive între lungimea piesei intermediare și potențialul membranal ($\Delta\Psi\text{m}$), atât în cazul taurilor de carne ($r=0.269$), cât și în cazul taurilor de lapte ($r=0.472$).

Un coeficient de corelație de 0.578 s-a observat între procentul de spermatozoizi vii, cu acrozom reacționat și lungimea piesei intermediare a spermatozoizilor proveniți de la tauri din rasa pentru lapte. La taurii din rase pentru carne, între lungimea piesei intermediare și procentul de spermatozoizi vii, cu acrozom reacționat s-a înregistrat un coeficient de corelație de 0.434.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLOASRII



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

Aceste rezultate pot fi explicate de rolul esențial pe care îl are piesa intermediară pentru capacitatea spermatozoizilor, proces care precede reacția acrozomului.

La taurii de lapte, s-a observat o corelații pozitive, puternice din punct de vedere statistic, între lungimea medie a piesei intermediare și BCF ($r=0.833$), STR ($r=0.701$), DAP ($r=0.815$), DCL ($r=0.947$), DSL ($r=0.894$), VAP ($r=0.822$) și VCL ($r=0.935$) și moderate între lungimea piesei intermediare și parametri ALH ($p=0.575$), respectiv VCL ($p=0.660$), LIN ($r=0.525$), VSL ($r=0.452$).

CAPITOLUL XII. CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI trasează în linii mari concluziile cele mai importante ale acestei teze împreună cu o serie de recomandări practice pentru biotehnologia de evaluare a materialului seminal de taur.