

REZUMAT

Creșterea și exploatarea ovinelor a fost și rămâne un obiectiv important, deoarece această specie poate utiliza drept hrană furajele mai puțin valorificate, iar necesitatea de adăpostire și îngrijire sunt mai puțin costisitoare față de alte specii.

Reproducția asistată, scurtarea intervalului fătare-montă fecundă, desezonizarea căldurilor și fătărilor cât și accelerarea fătărilor prin metode nehormonale și hormonale, pot contribui cu succes atât la realizarea a două fătări pe an, a trei fătări în doi ani, cât și la sporirea prolificității ovinelor.

Reușita și succesul aplicării acestor metode biotehnologice va fi posibilă numai acolo unde există o preocupare susținută de aplicare corectă a tuturor etapelor tehnice și biotehnologice care se pot concretiza prin obținerea unor rezultate deosebite în creșterea natalității și prolificității ovinelor și obținerea unor descendențe cu însușiri morfoproductive superioare, care să justifice efortul de difuzare de cunoștințe crescătorului privind introducerea și extinderea metodelor biotehnologice de reproducție.

Problema intensivizării reproducției la ovine prin reducerea intervalului între fătări, constituie o preocupare atât pe plan național cât și mondial, drept pentru care considerăm că tema aleasă este de actualitate.

Lucrarea de față intitulată: *CERCETĂRI PRIVIND DINAMICA PARAMETRILOR DE REPRODUCȚIE LA OAIE ÎN CONDIȚIILE UNOR BIOTEHNOLOGII APLICATE*, este redactată după normele metodologice în vigoare și conține două mari părți:

Partea I, reprezentată de cercetări bibliografice, conține un număr de cinci capitole intitulate: MORFOFIZIOLOGIA APARATULUI GENITAL LA BERBEC, EVALUAREA PRODUCȚIEI SPERMATICE LA BERBEC, MORFOFIZIOLOGIA APARATULUI GENITAL LA OAIE; FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ ACTIVITATEA DE REPRODUCȚIE; și PARTICULARITĂȚI ALE CICLULUI SEXUAL.

Partea a II-a, este alcătuită din cercetări personale și cuprinde patru capitole: DINAMICA NATURALĂ A PARAMETRILOR DE REPRODUCȚIE LA OVINE; APRECIEREA INDICILOR MATERIALULUI SEMINAL LA BERBEC ÎN CONDIȚIILE SEZONULUI PRINCIPAL ȘI SECUNDAR DE MONTĂ; ASPECTE CALITATIVE ALE MATERIALULUI SEMINAL DE BERBEC ÎN VEDEREA CONSERVĂRII PRIN

CONGELARE; și PARAMETRI DE REPRODUCȚIE LA OAIE, OBTINUȚI PRIN BIOTEHNOLOGII DE STIMULARE A ESTRULUI.

Cercetările aferente prezentei teze, s-au derulat în ferme de ovine situate în zona de nord a Moldovei. Unele determinări ce au necesitat aparaturi speciale și un volum de lucru ridicat, s-au desfășurat în colaborare cu Laboratorul de Reproducție și Biotehnologii din ICPCOC Palas, Constanța, cu personalul Laboratorului de Microscopie electronică din Universitatea "Ovidius" Constanța, și cu personalul disciplinelor de specialitate din cadrul Facultății de Medicină Veterinară din Iași.

Prezenta teză se încheie cu câteva concluzii generale, o listă de anexe și bibliografie.

În capitolul I, sunt descrise pe baza literaturii de specialitate **MORFOFIZIOLOGIA APARATULUI GENITAL LA BERBEC**, fiind prezentate aspecte ale particularităților anatomice ale aparatului genital, de la testicul la penis, precum și particularitățile fiziologice ale aparatului genital de berbec, reprezentate prin descrierea procesului de spermatogeneză. În continuare sunt prezentate mecanismele de ejaculare a spermei, reflexele sexuale la berbec, recoltarea materialului seminal, sperma și acțiunea asupra ei a factorilor de mediu. Dintre factorii care pot influența calitatea spermei sunt amintiți: temperatura, lumina, reacția mediului, presiunea osmotică, flora microbiană alimentația precum și acțiunea substanțelor chimice.

În capitolul II, este prezentată **EVALUAREA PRODUCȚIEI SPERMATICE LA BERBEC**. Fecunditatea unui mascul este în funcție de cantitatea și calitatea spermei. Noțiunea de calitate a spermei se referă la însușirile macro- și microscopice ale ejaculatului, corelate cu fertilitatea spermei. Pentru evaluarea cantității și calității spermei se folosesc metodele de laborator: • macroscopice; • microscopice; • biochimice; • bacteriologice. Evaluarea se efectuează imediat după recoltare.

Prin examen macroscopic se apreciază volumul ejaculatului, culoarea spermei, mirosul, densitatea și prezența valurilor spermatice. Examenul microscopic al spermei, ne furnizează date mai sigure despre calitatea ejaculatului și permite să se aprecieze densitatea și concentrația spermei, mobilitatea spermatozoidelor, procentul de spermatozoizi viabili, teratologici sau imaturi etc.

În capitolul III, este explicată **MORFOFIZIOLOGIA APARATULUI GENITAL LA OAIE**. Aparatul genital femel are rolul de a elabora gameți femeli (ovule), secretă o serie de hormoni indispensabili funcției de reproducție și este sediul unor procese ca: migrarea gameților, fecundația, nidația, dezvoltarea produsului de concepție și realizează totalitatea fenomenelor necesare expulzării fătului și anexelor acestuia.

Ca și prim subcapitol sunt descrise morfologia aparatului genital la oaie. Structural este alcătuit din: gonada femelă (ovarul) și căile genitale (oviduct, uter, vagin și vulvă). Aparatul genital la oaie, în general se aseamănă cu cel de vacă. Ovarele au o lungime de 1,5 – 2,5 cm și sunt ușor turtite. Coarnele uterine au aceeași orientare ca la vacă, fiind proporțional mai reduse. Corpul uterin are o lungime de 2 cm, iar cervixul de 2 – 3 cm. Floarea involtă prezintă două pliuri ale mucoasei cervicale, cel superior fiind mai dezvoltat decât cel inferior, acoperind ca o clapă lumenul. Carunculii mucoasei uterine sunt în număr de 88 – 96 și au o suprafață ușor concavă. Vaginul are o lungime de 6 – 8 cm, iar vestibulul vaginal de 2 – 5 cm. Nu prezintă canale Gäertner.

Fiziologia genitală la ovine este reprezentată de procesele de ovogeneză și foliculogeneză. Funcționalitatea aparatului genital femel se caracterizează printr-o ritmicitate ce începe la pubertate și încetează la climacterium. Ciclul sexual reprezintă totalitatea modificărilor gametogenice și endocrine prin care se realizează eliberarea uneia sau mai multor ovule apte pentru fecundare.

În capitolul IV, sunt prezentați *FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ ACTIVITATEA DE REPRODUCȚIE.*

Pubertatea și precocitatea sexuală la ovine. Pubertatea este definită ca fiind vârsta la care reproducerea este posibilă la femele, momentul fiind determinat de apariția primelor călduri. Ca și la celelalte specii, maturitatea sexuală este dependentă de starea de întreținere, nivelul alimentației, precocitatea rasei, peste care se suprapune influența factorilor climatici naturali din diferite sezoane. Maturarea foliculilor ovarieni. La naștere, mieuța conține în ovare toate ovulele necesare pentru viața reproductivă. Astfel, ovarul conține câteva zeci de mii de oogonii, din care cele mai multe degenerază și dispar în faza prepuberală. Maturarea și creșterea foliculilor primari nu sunt procese permanente, acestea producându-se la intervale regulate de 14-17 zile. Sezonul sexual la ovine este plasat către sfârșitul verii și începutul toamnei, iar durata lui este variabilă, de la 80 până la 150 de zile. Deasemenea sunt prezentate și aspecte legate de variabilitatea genetică, nutriție, efectul luminii asupra reproducției, vârsta și starea de întreținere și hormonii exogeni.

În capitolul V, sunt descrise *PARTICULARITĂȚI ALE CICLULUI SEXUAL.* Ovinele se reproduc cu intensitate maximă la sfârșitul verii și toamnei când durata „zilei lumină” scade. În restul anului, sfârșit de iarnă și primăvară, ovarul este în repaus, cu activitatea foarte scăzută. Se delimitează clar, o perioadă de activitate sexuală numită „sezon sexual” și o perioadă de repaus numită „anestru sezonier”. După fătare căldurile nu apar o perioadă. Acest repaus sexual este denumit anestru post-partum sau anestru de lactație.

Totalitatea modificărilor periodice și funcționale ale aparatului genital, însoțite de modificări psihice sunt cunoscute sub numele de călduri, iar totalitatea modificărilor morfologice și fiziologice care au loc între două perioade de călduri constituie ciclul sexual sau gametogen.

Particularitățile ciclului sexual la ovine sunt completate de noțiuni de reglare neuro-endocrină, apariția estrului și momentul ovulației, factorii ce condiționează ovulația, și însămânțarea artificială.

În capitolul VI, sunt descrise cercetări privind ***DINAMICA NATURALĂ A PARAMETRIILOR DE REPRODUCȚIE LA OVINE***. Studiul a fost derulat pe 1260 de ovine, din zona de N- a Moldovei, în județul Suceava. Zona de N a Moldovei este localizată în localitățile Brodina și Ulma. Perioada de monitorizare a efectivelor de ovine, a fost derulată pe parcursul unui an de zile și a început din septembrie 2010, urmărindu-se manifestarea estrului de către oi și mioare, monta acestora de către berbecii pepinieri, aprecierea fenomenului de reîntoarceri la estru, și supravegherea proceselor de parturiție.

Efectivele de ovine adulte în lactație au fost reprezentate de 59,9%, mioarele de 20,1%, tineretul ovin din anul curent de 15,5%. Berbecii arondați acestui efectiv au fost de 4,5% din totalul efectivului. Principalele rase componente ale efectivului de ovine au fost reprezentate de rasa Țurcană și de rasa Țigaie, din totalul acestora, 75,8% (955/1260) au fost ovine de rasă Țurcană și 24,2% (305/1260) au aparținut rasei Țigaie.

Ponderea manifestării spontane a estrului a înregistrat o valoare de 95,04%, pentru întreg lotul de oi. Ovinele primipare au manifestat estru în 96,9% din cazuri, valoare mai mare cu 2,5% față de media manifestării estrale întâlnită la oile adulte (94,4%). Din totalul lotului de oi intrate în călduri, 3,8% (36/959), au prezentat sindromul reîntoarcerilor la călduri la sfârșitul perioadei de montă. Pe categorii de vârstă, se observă un procent dublu la multipare (4,3%), comparativ cu mioarele (2,01%).

În condițiile meteo-climatice temporale din perioada sezonului de montă principal la ovine (temperatură medie 9,4°C, cantitate de precipitații 2,03 mm/mp și nebulozitate cod 4,6), din zona de N a Moldovei, 96,25% dintre oi au manifestat estru și libidou. Procentul total al parturientelor este de 86,1%, reprezentând de fapt rata fătării lotului de oi monitorizat. Pe categorii de vârstă rata fătării este asemănătoare, fiind de 85,9% la oi, și de 86,6% la mioare. Se observă o ușoară diferență pozitivă (de + 07%) la lotul de oi care au fătat pentru prima oară. Valoarea prolificității totale a fost de 105 %, obținându-se un număr de 868 miei. Remarcăm că 5% dintre parturiente au fătat miei gemelari.

În sezonul de toamnă, ovinele de rasă Țigaie au manifestat călduri în 91,7% din cazuri, comparativ cu ovinele de rasă Țurcană, unde s-a evidențiat estru la 96,1% din ovine.

Remarcăm o diferență pozitivă de 5,6% în favoarea rasei Țurcană și constatăm astfel o grupare mai concentrată a estrului. Mioarele țurcane au intrat în călduri cu 6,9% mai mult decât valoarea procentuală a celor de rasă Țigaie (92%). La pluripare, oile țurcane au intrat în călduri în 95,2% din efectiv, cu 4,4% mai multe față de țigaie (91,6%). Prolificitatea la rasa Țigaie a fost de 107,8%, cu 3,8% mai mare decât la rasa Țurcană (104%). Numărul de miei obținuți este deasemenea superior, iar proporția fătărilor gemelare la oi a fost cu 5,5% mai mare.

În capitolul VII, este descrisă *APRECIEREA INDICILOR MATERIALULUI SEMINAL LA BERBEC ÎN CONDIȚIILE SEZONULUI PRINCIPAL ȘI SECUNDAR DE MONTĂ*. Au fost selectați berbeci pentru întocmirea spermogramelor în dinamica lunară a sezoanelor principale și secundare de montă. Realizarea experimentului a fost efectuată în perioada sezonului principal de montă la ovine din anul 2010 și perioada sezonului secundar de montă în primăvara anului 2011.

În cadrul experimentului inițiat pentru monitorizarea indicilor spermatici la berbeci în zona de N a Moldovei, au fost recoltate un număr total de 480 de ejaculate, 240 de la fiecare rasă în parte, și 120 pentru fiecare sezon, rasă și lot de berbeci. Lotul berbecilor pregătiți pentru recoltare a fost alcătuit de câte 5 berbeci având vârsta de 2; 2,5; 3; 3,5 și 4 ani pentru fiecare oaie țurcană și țigaie.

În condițiile meteo-climatice temporale din nordul Moldovei, în perioada sezonului de toamnă (temperatură medie 9,4°C, cantitate de precipitații 2,03 mm/mp și nebulozitate cod 4,6), au fost înregistrați următorii indici medii ai spermogramei pe categorii. La berbecii de rasă Țigaie: volum 1,48 ml, mobilitatea 87,69 %, concentrație 3,36 mld spermatozoizi /ml. La berbecii de rasă Țurcană: volum 1,44 ml, mobilitatea 87,28 %, concentrație 3,57 mld spermatozoizi /ml.

În condițiile meteo-climatice temporale din nordul Moldovei, în perioada sezonului de primăvară (temperatură medie 8,5°C, cantitate de precipitații 0,7 mm/mp și nebulozitate cod 4,6), au fost înregistrați următorii indici ai spermogramei pe categorii de rasă. La berbecii de rasă Țigaie: volum 1,48 ml, mobilitatea 74,00 %, concentrație 2,05 mld spermatozoizi /ml. La berbecii de rasă Țurcană: volum 1,18 ml, mobilitatea 76,17 %, concentrație 2,51 mld spermatozoizi /ml.

În capitolul VIII, sunt descrise *ASPECTE CALITATIVE ALE MATERIALULUI SEMINAL DE BERBEC ÎN VEDEREA CONGELĂRII*.

Cercetările privind evidențierea modificărilor de structură suferite de celulele spermactice de berbec după congelare-decongelare în primul rând prezintă o importanță

științifică, pentru cunoașterea ultrastructurii celulei în diferite faze fiziologice. În al 2-lea rând, cunoașterea ultrastructurii celulei spermatice, prezintă o foarte mare importanță în dinamica congelare-decongelare. Astfel, menținerea structurală a celulei, după congelare-decongelare, va permite stabilirea celor mai bune metode de congelare, diluanți sau nivele glicerinice, care să mențină viabilitatea și capacitatea fecundantă a celulelor.

Celulele spermatice au fost congelate în azot lichid, folosind metoda rapidă de congelare. Sperma congelată în mediu TRIS, cu glicerină 4% a realizat o motilitate de 40,08% și un indice de supraviețuire celulară de 53,03%. Concentrația de 7% glicerină din mediu de congelare, este toxică; motilitatea și supraviețuirea celulară după decongelare a fost cu 10% și respectiv 27% decât celulele spermatice congelate în mediu cu glicerină 4%.

Aspectul ultrastructural a pus în evidență următoarele modificări la celulele normale: membrana plasmatică apare strâns aderentă de cap, mitocondrie și complexul filamentos axial. Nucleul prezintă o matrice electronodensă, intensă, iar acrozomul prezintă o matrice acrozomală, omogenă cu densitate electronooptică.

Spermatozoizii congelați prezintă aspect normal la 40-50% din aceștia. Restul celulelor spermatice prezintă membrana plasmatică externă balonată, parțial sau complet detașată, de pe cap, piesă intermediară și piesa terminală.

În capitolul IX, sunt prezentate rezultatele obținute asupra **PARAMETRILOR DE REPRODUCȚIE LA OAIE, OBȚINUȚI PRIN BIOTEHNOLOGII DE SINCRONIZARE A ESTRULUI**. Biotehnologiile de reproducere a oilor reprezintă domeniul cel mai nou și de perspectivă a biologiei contemporane.

STIMULAREA ESTRULUI LA OAIE ÎN SEZONUL DE PRIMĂVARĂ. Biotehnica de sincronizare a ciclului sexual la ovine, include sincronizarea estrului, ovulației și inducerea poliovulației, aceasta constituie o etapă importantă a biotehnologiei înșămânțărilor artificiale și transferului de embrioni, mai ales la ovine.

Schema terapeutică utilizată a fost bazată pe Progesteron, Prostaglandina F2 α și P.M.S.G. La oi de rasă Țurcană, au fost introduși intravaginal bureți impregnați cu progesteron, timp de 14 zile. La 90% din lotul experimental, secreții vaginale observate în urma îndepărtării inserțiilor cu Chronogest, sunt mai puțin abundente și au avut un aspect mai filant. La oile de rasă Țurcană din zona de N a Moldovei, supuse stimulării fazei estrale cu Chronogest și PG F2 α , s-a inițiat estru la 95% din cazuri, la 5% dintre acestea estru nu a fost prezent.

BIOTEHNOLOGIA ÎNSĂMÂNȚĂRILOR ARTIFICIALE LA OILE SINCRONIZATE. Ultima operațiune din fluxul tehnologic al înșămânțărilor artificiale o

constituie inocularea spermei, operațiune foarte importantă prin care materialul seminal este depus în conductul vaginal, cervical sau în cel uterin.

Materialul seminal de berbec a fost conservat în minipaiete de 0,25 ml individualizate corespunzător. La achiziționarea materialului seminal, s-a recurs la verificarea calității acestuia. Astfel mobilitatea după decongelare și achiziție a fost cuprinsă între 40 și 45 %. Din cauza particularităților anatomice a cervixului la oaie, nu la toate exemplarele s-a reușit trecerea vârfului pistoletului prin cervix. În aceste situații doza de material seminal a fost depusă la deschiderea cervixului în vagin, la nivelul orificiului cervical.

DIAGNOSTICUL DE GESTAȚIE LA OAIIE PRIN METODA ECOGRAFICĂ.

Utilizarea ultrasonografiei asupra aparatului genital la rumegătoarele mici începe să capete o importanță practică deosebită privind monitorizarea stării de sănătate uterine și diagnosticarea de gestație. Uterul gestant la 30 -45 de zile apare puțin evident în volum, cu pereții subțiați, iar în interior se observă prezența unui lichid, ce pe ecogramă apare cu nuanțe de gri foarte închis. Aceste zone cu hipoecogenitate scăzută aproape de anecogenitate sunt reprezentate de lichidele fetale formate în urma procesului de nidaie și placentatie.

Embrionul la 45 de zile, apare ca o zonă hiperecogenă, de câteva zeci de milimetri, înconjurat de zone cu ecogenitate scăzută (hipoecogen). Placentoamele la oaia gestantă, ecografic, apar ca zone lenticulare de dimensiuni variabile (1,5 -2,5 cm), cu ecogenitate mai crescută (carunculi), delimitate de un contur evident, iar în partea centrală apar zone ovalare de ecogenitate scăzută (cotiledon).

INDICII DE REPRODUCȚIE OBȚINUȚI ÎN CADRUL BIOTEHNICILOR DE STIMULARE A ESTRULUI ȘI ÎNSĂMÂNȚARE ARTIFICIALĂ.

Fecunditatea lotului de oi țurcane, apreciată pe baza sindromului de reîntoarceri (94,8%) este diferită de cea stabilită ecografic (89,5%). Această diferență nu este neapărat falsă, deoarece în intervalul dintre perioada manifestării sindromului de reîntoarceri la estru și momentul diagnosticului ecografic al gestației trece o anumită perioadă de timp în care pot fi interferate eventualele fenomene ale fecundației, nidației și placentatiei. Ponderea oilor care au ajuns la parturiție (rata fătării) a reprezentat 94,1% dintre acestea, și s-a obținut o prolificitatea a lotului experimental de 143,7%. Procentul fătărilor gemelare a fost de 43,75%. Toate aceste efecte sunt rezultatul aplicării terapiei hormonale etapizate din schema de stimulare a estrului și a ovulației.

DINAMICA NIVELULUI SERIC A PROGESTERONULUI ÎN TIMPUL

BIOTEHNICII DE STIMULARE A ESTRULUI LA OAIE.

În ziua 0 valoarea medie a titrului progesteronic a fost de 0,96 ng/ml, imediat după inserția bureților Chronogest în ziua 2, se constată o creștere bruscă a concentrației de progesteron din sânge (6,21 ng/ml). Ulterior se constată un nivel al progesteronemiei în scădere, dar mult peste limita inițială (5,08 – 3,22 ng/ml) între zilele 4 – 14. Din ziua a 15 a se observă o scădere mai accentuată a concentrației progesteronului, concentrație ce se menține la un nivel minim și în zilele următoare. Această scădere a titrului progesteronic, se explică prin îndepărtarea surselor exogene și endogene de progesteron. Din ziua a 14-a, odata cu scăderea nivelului progesteronemiei, structurile Sistemului Nervos Central sunt influențate negativ, din ce în ce mai slab, și ciclul fiziologic se reia prin reînceperea secreției de Gn-RH. Explicăm astfel, reluarea imediată a ciclicității sexuale prin apariția estrului în 36 – 55 de ore de la încheierea schemei terapeutice. Nivelul mediu al progesteronului seric în ziua 16 – 18 a fost de 0,35 – 0,31 ng/ml, valoare ce explică efectul și rezultatele schemei terapeutice aplicate. În această perioadă oile se aflau deja în estru, iar nivelul progesteronemiei exprimă valoarea lui la prima însămânțare. Studiul de față arată că progesteronul introdus de noi prin Chronogest menține concentrația plasmatică peste 3 ng / ml, după 14 zile de tratament, știind că nivelul minim de progesteron în urma căruia se obține un răspuns din partea hipotalamusului este de 1 ng/ml