



REZUMAT

Cuvinte cheie: vier, material seminal, prelucrare, variații sezoniere, CASA

Teza de doctorat intitulată „**Cercetări privind variațiile sezoniere ale indicatorilor spermatici la vier și fertilitatea acestora**” a fost elaborată în cadrul Școlii Doctorale a Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

Teza cuprinde 219 pagini și este constituită din două părți principale, conform normativelor aflate în vigoare la ora actuală. Pentru realizarea acesteia s-au utilizat ca sursă de documentare un număr de 192 titluri bibliografice din literatura de specialitate din țară și din străinătate relevante pentru subiectul tezei. Datele prezentate sunt susținute de 66 figuri și 45 tabele.

Originalitatea cercetărilor constă în compararea în premieră a trei modele specifice de camere de analiză utilizate pentru examinarea computerizată a materialului seminal de vier. De asemenea, pentru prima oară în țara noastră au fost monitorizate variațiile sezoniere ale parametrilor materialului seminal provenit de la vierii întreținuți în condiții standardizate. Nu în ultimul rând, teza prezintă primul studiu asupra variației sezoniere a distribuției subpopulațiilor de spermatozoizi mobili din materialul seminal prelucrat de vier. Toate aceste vor contribui la îmbunătățirea practicii de evaluare a spermei de vier prin alegerea dispozitivelor adecvate, la optimizarea producției de material seminal de vier prin oferirea unei soluții împotriva așa-numitei „infertilitate de sezon” descrisă la suine, precum și la o cunoaștere mai detaliată a fenomenelor ce stau la baza variațiilor sezoniere ale parametrilor seminali la vier.

Prima parte, intitulată „Stadiul actual al cunoașterii” cuprinde trei capitole (51 pagini), oferind informații disponibile în literatura de specialitate referitoare la morfologia și fiziologia aparatului genital de vier, la sezonalitatea funcției genitale la suine precum și la biotehnologia de însămânțare artificială la această specie, inclusiv date cu privire la recoltarea, evaluarea prin metode clasice și metode moderne, prelucrarea, conservarea și inocularea materialului seminal.

Partea a doua, intitulată „Cercetări proprii”, este structurată pe șapte capitole (104 pagini) și prezintă scopul și importanța cercetărilor, materialele și metodele de lucru, rezultatele obținute în urma analizelor efectuate, interpretarea rezultatelor și discuțiile pe baza interpretării prezum și concluziile ce pot fi notate în urma cercetărilor și recomandările practice.

În conținutul tezei se regăsesc date proprii publicate în lucrările științifice susținute în cadrul simpoziunelor organizate de Facultatea de Medicină Veterinară Iași sau de alte facultăți de profil din țară, manifestări științifice internaționale și reviste de specialitate cu indexare internațională (B+) și factor de impact (ISI).





În primul capitol din partea a doua a (**Capitolul IV** în cadrul tezei), intitulat “*SCOPUL SI OBIECTIVELE TEZEI*” sunt prezentate obiectivele cercetării și anume:

- Optimizarea protocolului de examinare computerizată a materialului seminal de vier prin aprecierea efectului pe care tipul de cameră utilizat în cadrul analizei computerizate a materialului seminal de vier diluat îl poate avea asupra rezultatelor obținute;
- Aprofundarea cunoștințelor legate de prelucrarea și conservarea materialului seminal de vier prin identificarea unor eventuale diferențe în ceea ce privește parametrii cinetici între un diluant pe termen scurt și unul pe termen lung în timpul unei perioade de conservare de șapte zile, prin depistarea eventualei influențe pe care ambalarea automată a materialului seminal o poate avea asupra calității acestuia precum și prin detectarea unor posibile corelații între parametrii seminali calculați după ejaculare și potențialul ejaculatului de a-și păstra calitatea în timpul conservării; toate acestea ar putea ajuta la îmbunătățirea protocolului de prelucrare a materialului seminal prin alegerea metodei și ejaculatelor potrivite;
- Consemnarea variațiilor sezoniere ale principalilor parametri spermatici la vierii întreținuți în condiții obișnuite, atât pentru materialul seminal brut cât și pentru materialul seminal prelucrat;
- Consemnarea variațiilor sezoniere ale principalilor parametri spermatici la vierii întreținuți în condiții standardizate;
- Depistarea subpopulațiilor de spermatozoizi mobili în materialul seminal de vier și observarea variației sezoniere a acestora;
- Studiarea relațiilor dintre variațiile parametrilor spermatici și fertilitatea materialului seminal de vier;
- Propunerea unei soluții de combatere a „infertilității de sezon” descrisă la vier.

Capitolul V, intitulat **CERCETĂRI PRIVIND OPTIMIZAREA EXAMINĂRII COMPUTERIZATE A MATERIALULUI SEMINAL DE VIER** a avut scopul de a observa dacă rezultatele analizei computerizate a materialului seminal de vier diluat pot fi influențate semnificativ de către tipul de cameră de analiză folosit iar dacă da, care dintre tipurile de cameră comparate oferă cel mai bun grad de precizie.

În vederea atingerii scopului, a fost examinat material seminal provenit de la cinci vierii sănătoși din rasa Pietrain, utilizați în mod uzual pentru reproducție într-o unitate comercială din Germania





ce produce doze pentru însămânțarea artificială a scroafelor. Examinarea a fost realizată după prelucrare și conservarea timp de două zile în stare lichidă, la 17°C. Pentru evaluarea parametrilor seminali a fost utilizat sistemul CASA, cu software-ul SpermVision versiunea 3.7

În cadrul examinărilor au fost utilizate trei tipuri comerciale de camere de unică folosință: camera Leja, camera MofA și camera Minitube, toate având înălțimea de 20 μm. Toate cele trei tipuri de cameră de analiză au fost umplute conform specificațiilor producătorului. Fiecare probă de material seminal a fost analizată cu câte 3 lame (12 camere) din fiecare tip, atât imediat cât și la 6 și 12 minute după umplerea camerei, însumând astfel un număr total de 540 de examinări (5 probe × 12 camere × 3 tipuri × 3 intervale de timp).

Următorii parametri seminali au fost determinați: concentrația în spermatozoizi (Conc.), mobilitatea totală (TMot), mobilitatea progresivă (PMot), viteza medie a spermatozoidelor (VAP), viteza curbilinie (VCL), viteza în linie dreaptă (VSL), coeficientul de rectilitate (STR), coeficientul de liniaritate (LIN), coeficientul de oscilație (WOB), amplitudinea de deplasare laterală a capului (ALH) și frecvența de intersectare a capului cu traiectoria medie (BCF).

Pentru a verifica precizia rezultatelor oferite de sistemul CASA în ceea ce privește concentrația în spermatozoizi a probelor, s-au folosit unele metode suplimentare, utilizate pe scară largă și considerate ca fiind precise: dispozitivul SQA-Vp, aparatul Nucleocounter® NC-100™ precum și camera de numărare Thoma.

Datele obținute au fost prelucrate statistic cu ajutorul programului IBM SPSS® Statistics, versiunea 21. Pentru a evidenția cazurile în care diferențele între cele 3 tipuri de lame au fost semnificative a fost aplicată analiza One-Way ANOVA.

Rezultatele au evidențiat o influență clară asupra tipului de cameră de analiză utilizat și valorile calculate de CASA. La examinarea imediat după umplerea camerelor, toți parametrii cinetici au prezentat diferențe semnificative în funcție de tipul de lamă folosit. Rezultatele cele mai bune au fost oferite de camera Leja pentru parametrii TMot, PMot, VAP, VCL, VSL și ALH, în timp ce camera Minitube a oferit rezultate superioare pentru parametrii STR, LIN, WOB și BCF. Toți parametrii cinetici analizați au prezentat valori mai mici atunci când s-a folosit camera MofA. Și la 6 minute după umplere, camerele Leja și Minitube au oferit rezultate mai bune și relativ asemănătoare pentru procentul mobilității, fără diferențe semnificative ($p < 0.05$) între ele. În ceea ce privește parametrii seminali calculați la 12 minute după umplerea camerei de analiză, s-a observat o scădere a parametrilor cinetici pentru toate cele trei tipuri de cameră de analiză, însă





mai ales în cazul camerei MofA, unde valoarea mobilității progresive a scăzut până la 5,42%. Așadar, valorile mobilității (atât cea totală cât și cea progresivă) au fost mai mici în cazul camerei MofA, iar efectul timpului trecut de la umplerea camerei a fost mult mai accentuat. Sunt necesare studii suplimentare asupra camerei de numărăt MofA, pentru a confirma sau infirma efectul negativ exercitat asupra parametrilor cinetici ai materialului seminal și pentru a determina dacă acesta se datorează unor factori chimici sau mecanici. De asemenea, se recomandă efectuarea unui studiu și pe material seminal provenit de la alte specii, fiind cunoscută sensibilitatea mai mare a spermatozoidelor de vier.

Pentru concentrația în spermatozoizi a materialului seminal, tipul MofA a prezentat valoarea cea mai mare, tipul Leja o valoare intermediară iar tipul Minitube valoarea cea mai mică. Totuși, nici una dintre camere nu s-a apropiat de rezultatele obținute cu metodele suplimentare de analiză. Deoarece atât aparatele SQA-Vp și Nucleocounter cât și camera de numărăt Thoma pot fi considerate metode de referință, se pare că sistemul CASA poate prezenta unele deficiențe în ceea ce privește determinarea concentrației materialului seminal diluat de vier indiferent de tipul de cameră folosit pentru analiză, rezultate asemănătoare fiind obținute și de alți autori. Imprecizia se datorează cel mai probabil aglutinării spermatozoidelor în proba analizată.

Studiul sugerează că rezultatele oferite de sistemul CASA la examinarea materialului seminal diluat de vier sunt influențate într-o măsură apreciabilă de tipul de cameră folosit la analiză, iar examinerii care folosesc sistemul CASA ar trebui să țină cont de tipul de cameră de analiză pe care îl folosesc și să regleze pragul de acceptare a unui ejaculat în funcție de aceasta. Nu în ultimul rând, studiul sugerează că pentru determinarea concentrației în spermatozoizi e mai recomandată utilizarea metodelor special concepute în acest sens, iar sistemul CASA ar trebui folosit doar când celelalte metode nu sunt disponibile.

Capitolul VI, cu titlul CERCETĂRI PRIVIND OPTIMIZAREA PROCESĂRII ȘI CONSERVĂRII MATERIALULUI SEMINAL DE VIER este structurat pe trei subcapitole.

Primul subcapitol, intitulat „Studiu comparativ privind eficiența a doi diluanți din clase diferite (diluante pe termen scurt și diluant pe termen lung)” și-a propus identificarea eventualelor diferențe în ceea ce privește parametrii cinetici între un diluant pe termen scurt și unul pe termen lung, în timpul unei perioade de conservare de șapte zile.

În acest scop, cinci ejaculate provenite de la cinci vierii clinic sănătoși și apti din punct de vedere sexual au fost împărțite în două alicote și diluate în două moduri: cu un diluant pe termen scurt, ce





asigură conservarea materialului seminal pentru trei zile și respectiv cu un diluant pe termen lung, conceput pentru a păstra calitatea materialului seminal timp de șapte zile. Sperma diluată astfel a fost examinată zilnic începând cu ziua diluției și finalizând la șapte zile după efectuarea diluției, cu ajutorul sistemului CASA, programul SpermVision versiunea 3.7. Au fost determinați următorii parametri: mobilitate totală (TMot), mobilitate progresivă (PMot), viteză în linie dreaptă (VSL), viteza medie (VAP), viteza curbilinie (VCL), coeficientul de liniaritate (LIN), coeficientul de rectilinitate (STR), coeficientul wobble (WOB), amplitudinea de deplasare laterală a capului (ALH), frecvența de intersectare a capului cu traiectoria medie (BCF). Datele înregistrate au fost procesate folosind programul IBM SPSS® Statistics versiunea 21. Diferențele între valorile oferite de cei doi diluanți folosiți la prelucrarea materialului seminal au fost considerate semnificative din punct de vedere statistic atunci când $p < 0,05$. Pentru a identifica diferențele semnificative dintre cei doi diluanți, s-a folosit analiza "Independent t-test", luând în calcul prezumția de variații egale.

Ambii diluanți au oferit valori satisfăcătoare după șapte zile de conservare, în ceea ce privește parametrii cinetici. Mobilitatea progresivă s-a menținut peste 60%, valoare ce reprezintă pragul de acceptare înainte de înșămânțarea artificială recomandat de unii autori. Un aspect interesant observat a fost acela că nu s-au evidențiat diferențe semnificative între cei doi diluanți în ceea ce privește mobilitatea totală și progresivă ($p < 0,05$). De fapt, doar doi dintre parametrii cinetici determinați au prezentat diferențe semnificative, mai exact viteza medie (VAP) și viteza în linie dreaptă (VSL).

În concluzie, diluantul pe termen lung folosit în cadrul cercetărilor pare să furnizeze rezultate puțin mai bune în cazul depozitării materialului seminal pentru o perioadă mai îndelungată, însă considerăm că ambii diluanți studiați pot fi folosiți pentru conservarea în stare lichidă până la șapte zile, la 17°C, fără diferențe majore în ceea ce privește parametrii cinetici. Cu excepția vitezei de deplasare a spermatozoidelor, niciunul dintre ceilalți parametri cinetici nu au prezentat diferențe semnificative, însă trebuie precizat că diluantul pe termen lung a oferit valori ușor mai mari aproape la fiecare examinare.

Al doilea subcapitol, intitulat „Studiu privind corelațiile între unii parametri ai materialului seminal brut și cei ai materialului seminal după prelucrare și conservare” și-a propus să identifice eventualele corelații între unii parametri ai spermei brute și cei ai spermei diluate și conservate timp de trei zile la 17°C, pentru o mai bună înțelegere a legăturii dintre parametrii seminali la ejaculare și potențialul său de a-și păstra calitatea în timpul depozitării, ceea ce ar putea ajuta la o





selecție mai eficientă a ejaculatelor înainte de prelucrării. Studiul a cuprins analiza a peste 1000 de ejaculate recoltate pe o perioadă de doi ani într-o unitate comercială din Germania specializată în producția de doze de însămânțare artificială a scroafelor. Doar ejaculatele cu peste 65% mobilitate totală au fost prelucrate, toate celelalte fiind eliminate înainte de diluție. Examinarea a fost efectuată în doi pași. Primul pas a constat în evaluarea spermei brute în primele 10 minute după ejaculare, utilizând (cu excepția volumului) dispozitivul SQA-Vp, cu determinarea următorilor parametri: volum, concentrație, mobilitate totală, numărul total de spermatozoizi/ejaculat, numărul total de spermatozoizi mobili/ejaculat, numărul total de spermatozoizi mobili/ml, procentajul spermatozoizilor morfologic normali, numărul total de spermatozoizi morfologic normali/ejaculat și numărul total de spermatozoizi mobili și morfologic normali/ejaculat. Cel de-al doilea pas a fost executat pe materialul seminal după prelucrare și trei zile de conservare în stare lichidă, la 17°C. Pentru această examinare s-a utilizat programul SpermVision versiunea 3.7., cu determinarea parametrilor cinetici: mobilitate totală (TMot), mobilitate progresivă (PMot), VSL, VAP, VCL, LIN, STR, WOB, ALH, BCF. Datele înregistrate au fost procesate folosind programul IBM SPSS® Statistics versiunea 21. Pentru a identifica eventualele corelații între parametrii spermei brute și cei ai spermei prelucrate și conservate, s-a efectuat Corelația Pearson (2-tailed).

Din păcate rezultatele au relevat doar o corelație moderată a mobilității totale din sperma brută cu mobilitatea totală și cea progresivă după prelucrare precum și o serie de corelații slabe între parametrii spermei înainte de prelucrare și cei după prelucrare și conservare timp de trei zile, care au însă o valoare prea mică pentru a sta la baza unei concluzii certe. Cele mai multe dintre corelațiile observate ar putea sugera că o densitate mai mare a materialului seminal brut și o rată mai intensă a producției de spermatozoizi vor determina spermatozoizii să se deplaseze mai repede dar și mai neregulat după conservare. Totuși, deoarece valorile corelațiilor au fost mici, se pare că parametrii seminali tind să se comporte diferit de la un ejaculat la altul.

Subcapitolul al treilea, cu titlul „Studiu comparativ privind eficiența recipientelor folosite la conservarea materialului seminal de vier în stare lichidă” a avut drept scop evidențierea eventualului efect al tipului de recipient și metodei de umplere a dozilor de însămânțare asupra parametrilor seminali cinetici. Pentru aceasta, cinci ejaculate provenite de la cinci vieri clinic sănătoși și apti din punct de vedere sexual au fost împărțite în două alicote și ambalate folosind două tipuri diferite de recipiente utilizate în mod uzual pentru conservarea materialului seminal de vier în stare lichidă, respectiv flacon de 100 de ml cu închidere manuală și tub de 100 ml cu





închidere automată. Au fost utilizate recipiente fabricate din același material (material plastic) și de aceeași companie (Minitube, Germania). Sperma diluată și ambalată astfel fost examinată zilnic timp de șase zile, începând cu ziua diluției. Examinarea a fost efectuată cu ajutorul sistemului CASA, programul SpermVision versiunea 3.7, calculând aceiași parametri ca în cadrul subcapitolului precedent: TMot, PMot, VSL, VAP, VCL, LIN, STR, WOB, ALH, BCF. Pentru a identifica diferențele semnificative, s-a folosit analiza "Independent t-test", luând în calcul prezumția de variații egale, iar diferențele între valorile obținute în cazul celor două tipuri de recipiente de conservare au fost considerate semnificative din punct de vedere statistic atunci când $p < 0,05$.

După cele cinci zile de conservare la 17°C , materialul seminal a prezentat valori acceptabile (peste 60%) în ceea ce privește parametrii cinetici, indiferent de tipul de recipient utilizat. De remarcat este însă că toți parametrii luați în calcul au prezentat diferențe semnificative ($p < 0,05$) după cele cinci zile de conservare, în funcție de recipientul folosit. Astfel, parametrii TMot, PMot, VAP, VCL, VSL, ALH și BCF au prezentat valori mai mari în cazul folosirii recipientelor de tip tub umplut automat, în timp ce parametrii STR, LIN și WOB au prezentat valori superioare în cazul utilizării flacoanelor umplute manual, ceea ce poate conduce la concluzia că în cazul tuburilor umplute și închise automat, spermatozoizii se deplasează într-o proporție mai mare și cu o viteză superioară, însă deplasarea este mai neregulată. Atât mobilitatea totală cât și cea progresivă au prezentat valori superioare în cazul folosirii recipientelor de tip tub umplut automat, în toate cele cinci zile de conservare, ceea ce sugerează că acest tip de recipient protejează mai bine valoarea biologică a spermatozoizilor. Printre cauzele posibile pentru acest fenomen se numără forma recipientului, tipul de umplere și modul de închidere a recipientului. În condițiile în care procentul mobilității reprezintă în continuare principalul criteriu de evaluare a calității spermei înainte de însămânțare, se poate afirma că tubul umplut și închis automat reprezintă nu doar o soluție economică, dar și o soluție pentru menținerea calității spermei pentru un timp mai îndelungat.

Capitolul al VII-lea, CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA SEZONULUI ASUPRA VALORII BIOLOGICE A SPERMEI DE VIER împărțit în două subcapitole, a avut drept scop monitorizarea variațiilor sezoniere ale principalilor parametri seminali la vier, în condițiile exploatarei industriale.





Primul subcapitol este la rândul său împărțit în două sub-subcapitole, și a vizat studierea variațiilor sezoniere ale parametrilor seminali la vierii întreținuți în condiții obișnuite, cu variații mari ale factorilor de microclimat pe parcursul anului, specifice fiecărui sezon.

În primul sub-subcapitol sunt prezentate metoda de lucru și rezultatele cercetărilor efectuate asupra materialului seminal brut. Studiul a cuprins analiza unui număr total de 11 476 ejaculate recoltate pe parcursul a 8 sezoane consecutive. Recoltarea și examinarea materialului seminal a fost efectuată într-o unitate din Germania, specializată în producerea de material seminal de vier și taur. Doar ejaculatele cu cel puțin 65% mobilitate totală au fost înregistrate și procesate, celelalte fiind eliminate. Au fost determinați următorii parametri: volumul ejaculatului, concentrația în spermatozoizi, mobilitatea totală, numărul total de spermatozoizi/ejaculat, numărul total de spermatozoizi mobili/ejaculat, numărul total de spermatozoizi mobili/ml, procentajul spermatozoizilor morfologic normali, numărul total de spermatozoizi morfologic normali/ejaculat și numărul total de spermatozoizi mobili și morfologic normali/ejaculat. Volumul a fost determinat prin cântărire, în timp ce pentru ceilalți parametri a fost utilizat dispozitivul SQA-Vp. Valorile obținute au fost procesate cu ajutorul programului IBM SPSS® Statistics versiunea 21. Pentru a semnala diferențele semnificative între sezoane a fost aplicat testul de analiză a variațiilor, One-Way ANOVA. Pragul de semnificație statistică a fost setat la $p < 0,05$.

Rezultatele au evidențiat faptul că sezonul de recoltare a avut o influență clară asupra cantității de material seminal ejaculat. Volumul a înregistrat valori superioare în timpul toamnei și valori inferioare în timpul primăverii cu diferențe semnificative între toate cele patru sezoane. Pentru sezonul de iarnă a fost obținută cea mai mică deviație standard, ceea ce reflectă un interval mai mic de variație. Pe de altă parte, concentrația în spermatozoizi a fost superioară în timpul iernii ($p < 0,05$). Numărul total de spermatozoizi/ejaculat a prezentat valori superioare în timpul toamnei. De remarcat că numărul total de spermatozoizi/ejaculat a fost semnificativ mai mic pe perioada primăverii și verii comparativ cu sezoanele de toamnă și iarnă. Calitatea materialului seminal brut a fost de asemenea influențată de sezonul de recoltare. Mobilitatea totală a spermatozoizilor a prezentat valori semnificativ mai mari în timpul iernii și primăverii comparativ cu valorile din timpul verii și toamnei. Cea mai mare medie a acestui parametru a fost înregistrată în sezonul rece, însă fără diferențe semnificative față de sezonul de primăvară. De asemenea, media cea mai mică a fost înregistrată în timpul sezonului estival, însă fără o diferență semnificativă față de media din timpul toamnei. Procentul spermatozoizilor morfologic normali a fost de asemenea superior în





perioada iarnă-primăvară, cu diferențe semnificative față de perioada vară-toamnă. Procentul cel mai mare s-a înregistrat primăvara, dar fără diferențe semnificative față de sezonul de iarnă ($p > 0,05$). La polul opus s-a situat sezonul de vară, cu diferențe semnificative față de toate celelalte sezoane ($p < 0,05$). Numărul de spermatozoizi mobili/ml a prezentat cele mai mari valori în timpul iernii, iar cele mai mici în timpul verii și toamnei. Pe de altă parte, numărul total de spermatozoizi mobili din ejaculat a oferit valori superioare în timpul toamnei (fără diferențe semnificative față de iarnă) și valori inferioare în timpul primăverii (fără diferențe semnificative față de vară). Variația a fost asemănătoare cu cea observată în cazul numărului total de spermatozoizi morfologic normali/ejaculat și numărului total de spermatozoizi mobili și morfologic normali din ejaculat.

Rezultatele obținute le confirmă pe cele ale unor studii anterioare, conform cărora calitatea materialului seminal brut de vier este mai scăzută în timpul verii. Pe de altă parte, atrage atenția cantitatea de spermă mai mare produsă în timpul toamnei, atât prin prisma volumului cât și a numărului total de spermatozoizi ejaculați. Analiza concomitentă a valorilor din timpul toamnei și primăverii, anotimpuri cu temperaturi apropiate dar care prezintă caractere diferite ale fotoperioadei (descrescător în timpul toamnei, respectiv crescător în timpul primăverii), ar putea sugera că fotoperioada prezintă o influență asupra spermatogenezei.

Cel de-al doilea sub-subcapitol a urmărit studierea variațiilor sezoniere ale calității materialului seminal prelucrat și conservat trei zile la 17°C . Un număr total de 4814 ejaculate au fost obținute de la 700 de vieri maturi din punct de vedere sexual și clinic sănătoși cazați în condiții normale într-o unitate specializată în producerea dozelor de însămânțare artificială din Germania, au fost examinate după trei zile de conservare utilizând sistemul CASA, programul SpermVision versiunea 3.7. Examinarea a fost realizată după trei zile de conservare la 17°C , cu determinarea parametrilor cinetici. Datele obținute au fost procesate statistic cu ajutorul programului IBM SPSS[®] Statistics versiunea 21. Pentru a semnala diferențele semnificative, a fost aplicat testul de analiză a variațiilor, One-Way ANOVA, iar pragul de semnificație statistică a fost setat la $p < 0,01$.

Conform rezultatelor obținute, mobilitatea totală a înregistrat cele mai mari valori în timpul iernii ($80,12\% \pm 10,43$), iar cele mai mici în timpul verii ($73,39\% \pm 13,28$). Valoarea medie înregistrată pentru sezonul de primăvară ($80,08\% \pm 10,51$) a fost asemănătoare cu cea pentru sezonul de iarnă, în timp ce toamna a fost apropiată ca valoare medie ($73,66 \pm 14,44$) de vară.

Mobilitatea progresivă a oferit de asemenea cele mai mari valori în timpul iernii ($75,22\% \pm 12,36$), iar cea mai mică în timpul toamnei ($64,55\% \pm 17,78$). Așadar, atât mobilitatea totală cât și





cea progresivă au prezentat valori superioare în sezonul de iarnă, ceea ce ar putea sugera că temperaturile ambientale scăzute au o influență pozitivă sau cel puțin nu au o influență negativă asupra calității spermei. Analiza One-Way ANOVA a indicat diferențe statistice semnificative între iarnă și primăvară pe de o parte și respectiv toamnă și iarnă de cealaltă parte, atât pentru mobilitatea totală cât și pentru cea progresivă ($p < 0,01$). Toți cei trei parametri ce indică viteza spermatozoizilor au variat între sezoane, cu cele mai mari valori fiind observate în timpul iernii și cele mai mici în timpul verii și toamnei. Pe de altă parte, parametrii ce indică uniformitatea deplasării spermatozoizilor au prezentat valori superioare în timpul verii. Ceilalți doi parametri cinetici determinați, amplitudinea de deplasare laterală a capului și frecvența de intersectare cu traiectoria medie au înregistrat valori superioare în timpul iernii.

Prin interpretarea rezultatelor obținute, studiul sugerează că sezonul de recoltare influențează parametrii materialului seminal de vier examinat după trei zile de conservare la 17°C. Această influență a fost evidentă pentru toți cei 10 parametri examinați. Se pare că în timpul iernii se înregistrează valori mai mari pentru mobilitatea totală și progresivă, pentru viteza de deplasare a spermatozoizilor (curbilinie, medie sau în linie dreaptă) dar și pentru amplitudinea de deplasare laterală a capului și frecvența de intersectare a capului cu traiectoria medie. Pe de altă parte, sezonul de vară oferă valori superioare pentru coeficienții de rectilinitate, liniaritate și wobble. Similitudini majore au fost observate între valorile din timpul iernii și primăverii și de asemenea între valorile din timpul verii și toamnei, sugerând o dependență a acestor parametri de caracterul fotoperioadei, respectiv crescătoare sau descrescătoare.

Al doilea subcapitol al capitolului VII a avut drept scop monitorizarea variațiilor sezoniere ale principalilor parametri spermatici la vierii cazați în condiții standardizate cu variații minime de temperatură și regim de lumină constant pe parcursul anului.

Materialul seminal a provenit de la 31 vieri din rasa Pietrain, clinic sănătoși și mature din punct de vedere sexual dintr-o unitate modernă, construită recent, specializată în reproducție suină. Temperatura a fost menținută pe perioada întregului an în jurul valorii de 18°C, utilizând sisteme de încălzire iarna și aspersiuni cu apă în timpul verii. Lumina a fost asigurată artificial, timp de 11 ore zilnic, indiferent de sezon. Hrana a fost preparată după aceeași rețetă pe tot parcursul studiului și administrată automat, prin instalații speciale. Apa a fost asigurată *ad libitum*.

După recoltarea spermei au fost determinați principalii parametri seminali, după cum urmează: volumul ejaculatului –folosind paharul gradat, concentrația în spermatozoizi, numărul total de





spermatozoizi/ejaculat, mobilitate totală, număr total de spermatozoizi mobili/ejaculat, mobilitate progresivă, număr total de spermatozoizi progresivi/ejaculat –utilizând sistemul CASA, modelul CEROS II. Doar ejaculatele cu cel puțin 60% mobilitate totală au fost înregistrate și procesate, celelalte fiind eliminate. Durata studiului a fost de 12 luni, incluzând astfel toate cele patru sezoane specifice climatului temperat. Datele obținute au fost procesate statistic utilizând programul IBM SPSS® Statistics, versiunea 21 Pentru a semnala diferențele statistic semnificativ, a fost aplicat testul One-Way ANOVA, iar pragul de semnificație a fost setat la $p < 0,05$.

Rezultatele au evidențiat valori pentru volumul ejaculatului mai mari în timpul verii, cu diferențe semnificative față de celelalte sezoane și mai mici în timpul toamnei, contrazicându-le pe cele raportate de alți autori. Pentru concentrația materialului seminal nu au fost depistate diferențe semnificative, cu excepția toamnei, care a înregistrat valori semnificativ mai mari, fapt ce ar putea fi explicat prin volumul mai scăzut al ejaculatelor din aceeași perioadă.

Numărul total de spermatozoizi/ejaculat (TS/Ej.) a prezentat valori semnificativ mai ridicate în timpul sezonului de vară. La polul opus s-a aflat sezonul de iarnă, în timp ce între sezoanele de primăvară și toamnă nu au fost observate diferențe semnificative ($p > 0,05$). Din nou, rezultatele le-au contrazis pe cele obținute în alte studii, în care numărul total de spermatozoizi a fost semnificativ mai mic primăvara și vara comparativ cu toamna și iarna.

Mobilitatea totală (TMot) a înregistrat valori mai mici vara, dar fără diferențe semnificative statistic față de valorile din timpul primăverii și toamnei ceea ce sugerează că standardizarea condițiilor de cazare a ajutat la evitarea stresului caloric caracteristic verii. Singurul anotimp ce a prezentat diferențe semnificative comparativ cu restul a fost iarna, pe parcursul căreia au fost înregistrate cea mai mare valoare medie și cea mai mică variabilitate a valorilor. Un comportament identic a fost observat pentru mobilitatea progresivă (PMot). Numărul total de spermatozoizi mobili (TMS/Ej.) a prezentat valori mai ridicate în timpul verii, însă diferențele față de primăvară și toamnă nu au fost semnificative. Cât despre numărul total de spermatozoizi cu mișcări progresive (TPS/Ej.), au fost înregistrate valori semnificativ mai mari în timpul verii comparativ cu celelalte sezoane, fapt ce poate fi corelat cu valorile mai mari ale TS/Ej. din timpul acestei perioade. Toate celelalte sezoane au arătat între ele diferențe minore, nesemnificative în ceea ce privește valoarea TPS/Ej.

În concluzie, rezultatele le-au contrazis în cea mai mare parte pe cele obținute de alți autori în studii pe aceeași temă, precum și pe cele obținute în urma studiului prezentat în subcapitolul





anterior. Deși au putut fi observate unele variații ale valorilor de la un sezon la altul, acestea au fost mai reduse, și ar fi putut fi cauzate de alți factori ce afectează spermatogeneza, cum ar fi vârsta vierilor sau infecțiile subclinice. De asemenea, în timp ce majoritatea autorilor afirmă că în timpul verii cantitatea spermei este redusă, în acest studiu au fost obținute valori mai mari pentru volum și numărul total de spermatozoizi/ejaculat, sugerând că standardizarea și optimizarea microclimatului în fermă poate reduce stresul caloric asupra spermatogenezei din timpul verii, oferind astfel o soluție împotriva infertilității de sezon la suine. Studii suplimentare sunt necesare pentru a observa dacă acest sistem de cazare este eficient și în ceea ce privește parametrii speciali ai materialului seminal.

Capitolul VIII, cu titlul CERCETĂRI PRIVIND SUBPOPULAȚIILE DE SPERMATOZOIZI DIN MATERIALUL SEMINAL DE VIER ȘI VARIAȚIA SEZONIERĂ A ACESTORA și-a propus studierea structurii heterogene a materialului seminal diluat de vier, cu identificarea subpopulațiilor de spermatozoizi mobili și monitorizarea variației sezoniere a distribuției acestora.

Studiul a cuprins analiza unui număr total de 4814 ejaculate obținute de la 700 de vieri maturi din punct de vedere sexual și clinic sănătoși, cazați în condiții normale într-o unitate specializată în producerea dozelor de însămânțare artificială din Germania. Durata recoltării și examinării a fost de 24 de luni. După ce au fost testate calitativ în cadrul examenului general, ejaculatele au fost diluate și supuse conservării la 17°C. Examinarea s-a realizat după trei zile de conservare, utilizând sistemul CASA, programul SpermVision 3.7. Următorii parametri seminali au fost determinați: viteza medie a spermatozoizilor (VAP), viteza curbilinie (VCL), viteza în linie dreaptă (VSL), coeficientul de rectilinitate (STR), coeficientul de liniaritate (LIN), coeficientul de oscilație (WOB), amplitudinea de deplasare laterală a capului (ALH) și frecvența de intersectare a capului cu traiectoria medie (BCF). Pentru fiecare probă analizată, au fost accesate datele individuale ale spermatozoizilor aflați în câmpul salvat de computer, obținând astfel valorile calculate pentru un număr total de 433 145 de spermatozoizi analizați pe parcursul celor doi ani. Toate datele au fost ulterior incluse într-o bază de date comună. Pentru identificarea subpopulațiilor, valorile au trecut printr-o serie de analize statistice, utilizând programul IBM SPSS® Statistics versiunea 21. Primul pas a fost reprezentat de efectuarea analizei componentelor principali (Principal Component Analysis, cunoscută și sub abrevierea PCA) asupra celor 8 parametri cinetici amintiți mai sus, urmat de selectarea celor două variabile cu cele mai mari valori în matricea componentelor (VAP și LIN), standardizarea valorilor pentru variabilele selectate și aplicarea procedurii „k-means





cluster analysis". După aplicarea acestei analize, apartenența fiecărui spermatozoid la unul dintre subgrupuri a fost salvată, pentru a putea calcula procentul fiecărei subpopulații identificate.

În urma analizei de clustering efectuate în cadrul acestui studiu, heterogenitatea materialului seminal a fost evidentă, cu existența unor subgrupuri distincte de spermatozoizi caracterizate prin valori diferite pentru viteza de deplasare și coeficientul de liniaritate. Pe scurt, caracteristicile principale ale acestora au fost după cum urmează:

- subpopulația 1 a cuprins spermatozoizi ce s-au deplasat cu o viteză ridicată însă cu un coeficient de liniaritate relativ scăzut. Acest grup a cuprins circa 28% din totalul spermatozoidelor analizate;

- subpopulația 2 a cuprins spermatozoizi caracterizați de viteză și liniaritate reduse. Aproximativ 26% din totalul spermatozoidelor au făcut parte din acest grup;

- subpopulația 3 a fost reprezentată de spermatozoizi cu viteză și coeficient de liniaritate relativ ridicate. În total, aproximativ 20% spermatozoizi au făcut parte din acest grup;

- subpopulația 4 a inclus spermatozoizi ce s-au deplasat cu viteză redusă însă cu un coeficient de liniaritate ridicat. Acești spermatozoizi au reprezentat circa 26% din numărul total.

Sezonul a arătat o influență clară asupra distribuției subpopulațiilor de spermatozoizi din materialul seminal de vier în cadrul acestui studiu.

Anotimpul de primăvară a fost caracterizat printr-o distribuție aproximativ uniformă, cu ponderea cam mai mare oferită de subgrupul 1 (28,3%) și cea mai mică de subgrupul 3 (22,2%). La limita superioară s-au remarcat subgrupurile 1 și 4, cu proporții aproximativ egale.

În timpul verii s-a observat o reducere în ponderea subgrupului 3, care a atins doar 16,5% și a subgrupului 1, care a ajuns la 23%, cu o diferență în minus de peste 5% față de iarnă. În același timp, ponderea subgrupurilor 2 și 4 a crescut considerabil. Cea mai mare pondere în sezonul estival a fost oferită de spermatozoizii lenți, dar liniari (31,4%).

Anotimpul de toamnă nu a prezentat diferențe majore referitoare la distribuția subpopulațiilor mobile de spermatozoizi în comparație cu anotimpul precedent. Spermatozoizii rapizi și liniari au fost din nou cei mai puțini, cu doar 14,7%. S-a remarcat o creștere a subgrupului 1, care s-a apropiat în dimensiuni de subgrupurile 2 și 4. Astfel, toamna s-a caracterizat printr-un procent redus de spermatozoizi rapizi și liniari și proporții aproximativ egale a tuturor celorlalte categorii.

Sezonul rece a oferit o creștere substanțială a procentului de spermatozoizi având viteză de deplasare și coeficient de liniaritate ridicate (subgrupul 3) precum și o scădere considerabilă a





procentului de spermatozoizi lenți și neliniari (subgrupul 2). În același timp a crescut numărul de spermatozoizi încadrați în subgrupul 1 (rapizi, non-liniari), atingând ponderea maximă în cadrul anotimpului (32,7%). Nu trebuie omisă reducerea subgrupului 4, care a înregistrat cea mai mică proporție (19%).

Cercetările efectuate în cadrul acestui capitol au condus către concluzia că materialul seminal diluat de vier este caracterizat de prezența a patru subpopulații distincte de spermatozoizi, definite prin viteze de deplasare și uniformitate a traiectoriei diferite iar anotimpul de recoltare are o influență clară asupra distribuției subpopulațiilor de spermatozoizi mobili.

Faptul că sezonul de recoltare modifică distribuția spermatozoizilor în cadrul subpopulațiilor mobile poate modifica percepția asupra variațiilor sezoniere ale parametrilor cinetici pentru sperma de vier. Într-un capitol anterior (capitolul 7) s-a arătat că anotimpul are un impact semnificativ asupra valorilor medii ale unor parametri precum viteza de deplasare sau liniaritatea/rectilinitatea traiectoriei spermatozoizilor. Astfel, modificările sezoniere ale parametrilor amintiți ar putea fi cauzate de modificarea numărului de spermatozoizi care se încadrează într-o subpopulație sau într-alta și nu de o scădere/creștere a valorilor pentru toți spermatozoizii ejaculați.

Capitolul IX, intitulat **CERCETĂRI PRIVIND FERTILITATEA SCROAFELOR ÎN RAPORT CU VALOAREA BIOLOGICĂ A MATERIALULUI SEMINAL** a avut scopul de a estima efectul unor parametri ai materialului seminal de vier asupra celor mai importanți indicatori ai fertilității la scroafe: rata fătărilor și prolificitatea.

Cercetările s-au efectuat într-o unitate comercială situată în nord-estul României, a cărei activitate o reprezintă creșterea și reproducția suinelor.

Activitățile au inclus recoltarea și examinarea materialului seminal de vier, însămânțarea artificială a scroafelor cu sperma ce a îndeplinit standardul de calitate și calcularea ratei parturițiilor, prolificității, numărului de purcei vii/parturiție și a numărului de purcei morți/parturiție. Evaluarea materialului seminal a constat în determinarea volumului ejaculat, concentrației în spermatozoizi, numărului total de spermatozoizi/ejaculat, mobilității totale, mobilității progresive, numărului total de spermatozoizi mobili/ejaculat și a numărului total de spermatozoizi cu mobilitate progresivă/ejaculat. Cu excepția volumului, pentru care s-a folosit paharul gradat, toți parametrii au fost determinați cu ajutorul unui sistem CASA (CEROS II, IMV Technologies, Franța).





Cecetările au detectat corelații slab pozitive ale ratei parturițiilor cu numărul total de spermatozoizi cu mobilitate progresivă/ejaculat și concentrația materialului seminal, ale numărului de purcei vii/parturiție cu concentrația materialului seminal și ale numărului de purcei morți/parturiție cu volumul ejaculat. De asemenea, au fost identificate corelații slab negative între rata parturițiilor și volumul ejaculat, între numărul total de purcei/parturiție și mobilitatea progresivă, între numărul de purcei vii/parturiție și mobilitatea spermatozoizilor (totală și progresivă) și între numărul de purcei morți/parturiție și concentrație. Nu în ultimul rând, au fost depistate unele corelații printre indicatorii de fertilitate ai scroafelor, dintre care cele mai importante au fost una puternic pozitivă între numărul total de purcei/parturiție și numărul de purcei vii/parturiție și una moderat negativă între numărul de purcei vii/parturiție și numărul de purcei morți/parturiție.

Analiza sezonieră a evidențiat, procentual, mai multe fătări după însămânțările din timpul toamnei și primăverii, fără diferențe semnificative între cele două sezoane. De asemenea, ejaculatele recoltate toamna au oferit cea mai mare prolificitate, cu diferențe semnificative față de celelalte sezoane ($p < 0,05$). La polul opus se află ejaculatele recoltate iarna, cu diferențe semnificative față de ejaculatele din timpul verii și toamnei ($p < 0,05$), nu însă și față de cele din timpul primăverii. Numărul de purcei vii/parturiție a fost oferit un comportament sezonier identic cu prolificitatea. Pe de altă parte, numărul de purcei morți/parturiție a prezentat cele mai mari valori după utilizarea ejaculatelor recoltate iarna și primăvara, fără diferențe semnificative între cele două sezoane ($p > 0,05$), iar la polul opus s-au situat ejaculatele recoltate în timpul toamnei, cu diferențe semnificative față de celelalte sezoane ($p < 0,05$).

Deoarece nu au fost detectate corelații puternice între principalii parametri spermatici și fertilitatea la scroafe, concluzia studiului este că examenul general al spermei nu poate fi folosit pentru determinarea capacității fecundante a unui ejaculat. Poate fi util în eliminarea ejaculatelor cu o calitate scăzută certă, însă nu garantează selectarea doar a ejaculatelor de o calitate superioară. De asemenea, se pare că ejaculatele cu o capacitate fecundantă foarte bună, cu o probabilitate mare de a induce gestația nu asigură și obținerea unui număr mai mare de produși de concepție, aspect sugerat de lipsa corelațiilor între rata parturițiilor și prolificitate.

Capitolul XII, CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI prezintă cele mai importante concluzii ce se evidențiază în urma cercetărilor efectuate precum și o serie de sugestii pentru specialiștii din domeniul producției de material seminal de vier.

