



MD 1461 Z 2021.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1461** (13) **Z**
(51) Int.Cl: *A61D 19/02* (2006.01)
A23K 10/16 (2016.01)
A23K 20/142 (2016.01)
A23K 20/147 (2016.01)
A23K 20/158 (2016.01)
A23K 20/163 (2016.01)
A61K 35/748 (2015.01)
A23K 50/30 (2016.01)
A61P 15/08 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ

(21) Nr. depozit: s 2019 0038 (22) Data depozit: 2019.03.26 (41) Data publicării cererii: 2020.09.30	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.10.31, BOPI nr. 10/2020
(71) Solicitanți: INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE BIOTEHNOLOGII ÎN ZOOTEHNIE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD	
(72) Inventatori: DARIE Grigore, MD; CIBOTARU Elena, MD; OSIPCIUC Galina, MD; DJENJERA Irina, MD; RUDIC Valeriu, MD; DJUR Svetlana, MD; CHIRIAC Tatiana, MD; CHISELIȚA Oleg, MD	
(73) Titulari: INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE BIOTEHNOLOGII ÎN ZOOTEHNIE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ, MD; INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD	

(54) Procedeu de stimulare a spermatogenezei la vieri

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la zootehnie, în special la stimularea spermatogenezei suinelor și poate fi utilizată în perioadele critice ale anului, în scopul utilizării eficiente a genofondului autohton de vieri pe durata întregului an.

Procedeul de stimulare a spermatogenezei la vieri include hrănirea

2
vierilor cu nutreț, ce conține un adaos de bioprodus pe bază de extracte din biomasa de *Spirulina platensis* CNM-CB-02 în cantitate de 3,3 g per 1 kg de nutreț, care se administrează vierilor în cantitate de 4,0-4,5 kg/cap în perioadele de primăvară și vară, zilnic timp de 45-50 zile.

Revendicări: 1

MD 1461 Z 2021.05.31

(54) Method for stimulating spermatogenesis in boars**(57) Abstract:**

1
The invention relates to animal husbandry, in particular to the stimulation of spermatogenesis in pigs, and can be used during critical periods of the year, for the effective use of local gene pool of boars throughout the year.

The method stimulating spermatogenesis in boars comprises feeding

2
boars with combined feed comprising a biopreparation additive based on extracts from *Spirulina platensis* CNM-CB-02 biomass in an amount of 3.3 g per 1 kg of feed, which is administered to boars in an amount of 4.0-4.5 kg/head during the spring and summer periods, daily for 45-50 days.

Claims: 1

(54) Способ стимуляции сперматогенеза у хряков**(57) Реферат:**

1
Изобретение относится к животноводству, в частности к стимуляции сперматогенеза свиней, и может быть использовано в критические периоды года, для эффективного использования местного генофонда хряков в течении всего года.

Способ стимуляции сперматогенеза у хряков включает кормление хряков кормом,

2
содержащим добавку биопрепарата на основе экстрактов из биомассы *Spirulina platensis* CNM-CB-02 в количестве 3,3 г на 1 кг корма, вводимого хрякам в количестве 4,0-4,5 кг/голову в периоды весна и лето, ежедневно в течение 45-50 дней.

П. формулы: 1

Descriere:

5 Invenția se referă la zootehnie, în special la stimularea spermatogenezei suinelor și poate fi utilizată în perioadele critice ale anului, în scopul utilizării eficiente a genofondului autohton de vieri pe durata întregului an.

10 Actualmente, sunt cunoscute diferite procedee de menținere a calității și cantității materialului seminal la vieri, bazate pe furajare cu nutrețuri ce conțin cantități înalte de proteine de origine animală (lapte degresat, făină de pește, ouă), vegetală (orz, grâu, ovăz etc.), vitamine A și E, microelemente, diverse premixuri (Антонюк В.С. Биотехнические способы повышения эффективности оплодотворения сельскохозяйственных животных. Минск, Урожай, 1988, p. 27-33; Сердюк С.И. Искусственное осеменение в промышленном свиноводстве. М., Колос, 1977, p. 23-24), însă neajunsul acestor procedee constă în complexitatea furajelor utilizate și oscilația statistic semnificativă în cantitatea și calitatea materialului seminal pe parcursul anului în dependență de anotimp. Este demonstrat că în lunile de primăvară și vară, când temperatura crește peste 35°C, se reduce cantitatea și calitatea materialului seminal la vieri, ce influențează negativ fertilitatea și eficiența utilizării fondului genetic suin (Антонюк В.С. Биотехнические способы повышения эффективности оплодотворения сельскохозяйственных животных. Минск, Урожай, 1988, p. 141-151, Zăhan M. Conservarea resurselor genetice în zootehnie. Cluj-Napoca, Accent, 2017, p. 69).

20 Se cunosc avantajele utilizării raționale și eficiente a reproducătorilor cu potențial genetic valoros, însă la vieri e complicat de a obține un număr mare, acceptabil, de descendenți pe parcursul întregului an.

25 Se cunoaște un procedeu de hrănire a vierilor pentru obținerea unei cantități optime de material seminal de calitate înaltă prin utilizarea în rația furajeră pentru vierii reproducători a premixului KC-1. Norma zilnică de administrare este de 4,0-4,5 kg de furaj, ce conține 35 g de premix KC-1 [1]. Astfel, la utilizarea acestui procedeu volumul ejaculatelor primăvara, vara și toamna este cu 14, 34 și respectiv 36 ml mai mic decât iarna, când volumul ejaculatului constituie în medie 324±12,4 ml. Concentrația spermatozoizilor în ejaculate oscilează la nivel de (0,15-0,16) ±0,1 miliarde/ml, cu o mobilitate de 80-83% pe durata anului. Dezavantajul acestui procedeu constă în oscilația semnificativă a cantității și calității materialului seminal în dependență de anotimp.

30 Cea mai apropiată soluție în raport cu invenția este utilizarea la tauri a extractului din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02 în soluție fiziologică, cu concentrația de 5 mg/ml, în doză de 0,1...0,4 ml/100 kg de masa vie, timp de 10 zile [2]. Astfel, la utilizarea acestui procedeu a sporit volumul ejaculatului, mobilitatea celulelor spermatice și concentrația celulelor spermatice în ejaculat. Dezavantajul acestui procedeu constă în stresarea reproducătorilor pe durata injectării preparatului, ce poate afecta negativ spermatogeneza și necesitatea manipulărilor suplimentare pentru executarea lui.

40 Problema pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unui procedeu de stimulare a spermatogenezei la vieri, care asigură o cantitate și calitate constantă a materialului seminal pe parcursul anului, sporind eficiența utilizării fondului genetic suin, eliminând stresul și manipulările suplimentare.

45 Esența invenției constă în aceea că se propune un procedeu de stimulare a spermatogenezei la vieri, care include hrănirea vierilor cu nutreț, ce conține un adaos de bioprodus pe bază de extracte din biomasa de *Spirulina platensis* CNM-CB-02 în cantitate de 3,3 g per 1 kg de nutreț, care se administrează vierilor în cantitate de 4,0-4,5 kg/cap în perioadele de primăvară și vară, zilnic timp de 45-50 zile, totodată bioprodusul conține, la 1 kg de talc: extract de aminoacizi și oligopeptide 3,5-5 g; extract de fosfolipide 3,5-5 g; extract de proteoglicani, inclusiv polizaharide sulfatate 3,5-5 g; extract proteic 3,5-5 g; extract de mixoxantofilă 0,75-1,25 g.

50 Efectul pozitiv este cauzat de suplinirea nutrețului combinat pentru vierii reproductori cu bioprodus complex care posedă acțiune antioxidantă, de stabilizare a membranelor, de stimulare a regenerării țesuturilor și influențează asupra spermatogenezei, stimulând celulele *Sertoli* și multiplicarea celulelor liniei seminale a epiteliului germinativ în faza de multiplicare, condiționând sporirea numărului de spermatozoizi la etapa de maturare a spermatogenezei, contribuind astfel la obținerea numărului constant de spermatozoizi maturi indiferent de anotimpul anului.

Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea cu 0,17 miliarde/ml de spermatozoizi toamna, 0,19 miliarde/ml iarna, 0,20 miliarde/ml vara, și 0,21 miliarde/ml primăvara, față de martor și uniformizarea volumului ejaculatelor pe durata întregului an (tabel).

Implementarea invenției va permite:

- 5 - excluderea oscilației nivelului cantitativ și calitativ al spermei pe parcursul întregului an;
- utilizarea eficientă a materialului seminal obținut de la vierii reproducători de mare valoare zootehnică;
- folosirea rațională a fondului genetic suin autohton;
- 10 - producerea și comercializarea materialului seminal de bună calitate pe tot parcursul anului.

Exemplu de realizare a invenției

Se prepară nutrețul combinat destinat pentru vierii reproducători. În componența nutrețului combinat se adaugă bioprodusul complex, obținut prin extracție fracționată cu diferiți solvenți din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02, în cantitate de 3,3 g per 1 kg de nutreț, care se administrează zilnic vierilor câte 4,0-4,5 kg per cap (în 2-3 rate), în funcție de masa corporală, în perioadele critice ale anului (primăvara și vara). După administrarea timp de 45-50 zile, se apreciază volumul ejaculatului, mobilitatea și concentrația spermatozoizilor în ejaculat cu ajutorul programului CEROS.

20 Bioprodusul complex se obține prin îmbibarea treptată a talcului (1 kg) cu diferite extracte:

a) 350-500 ml extract de aminoacizi și oligopeptide cu concentrația de substanță uscată de 10 mg/ml (1%);

25 Extractul se obține prin extragerea repetată din biomasa de spirulină timp de 1 oră cu etanol de 75% în raport de 1:1 (m/v), prelucrarea supernatantului cu hexan în raport de 4:1 (v/v). Soluția hidroetanolică obținută se standardizează până la concentrația de 10 mg/ml substanță uscată;

b) Extract de fosfolipide 3,5-5g;

30 Extractul se obține prin înghețarea-dezghetarea și omogenizarea biomasei de spirulină, extragerea acesteia cu alcool etilic de 96% într-un raport de volum respectiv de (1...2):10, la temperatura de 60°C timp de 60 min, distilarea alcoolului, dizolvarea extractului cu un amestec de cloroform și etanol luate în raport de volum de 95:5 și sedimentarea fosfolipidelor cu acetonă la temperatura de 0°C (MD 130 Y 2010.01.31);

35 c) 350-500 ml de extract de proteoglicani, inclusiv polizaharide sulfatate, cu concentrația de substanță uscată de 10 mg/ml (1%);

40 Extractul se obține prin extragere din biomasa de spirulină cu apă distilată în raport de 1:45 (m/V) la temperatura de 90°C, timp de 2 ore. După centrifugare timp de 10 min, la 4800 rot./min, la supernatant se adaugă soluție de 1% de bromură de cetiltrimetilamoniu pentru precipitarea polizaharidelor cu centrifugare repetată la aceiași parametri. Precipitatul obținut se spală cu soluție saturată de acetat de sodiu în alcool de 95%, apoi repetat cu alcool de 96%. Precipitatul se solubilizează în apă purificată și se standardizează până la concentrația de 10 mg/ml substanță uscată (Ratana Chaiklahan ș.a. Polysaccharide extraction from *Spirulina* sp. and its antioxidant capacity. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 58, p. 73-78);

45 d) 350-500 ml de extract proteic cu concentrația de substanță uscată de 10 mg/ml (1%);

50 Extractul se obține din biomasa tulpinii cianobacteriei *Spirulina platensis* CNM-CB-02 prin extragere cu soluție alcoolică de 20-30%, centrifugarea cu separarea sedimentului, care se usucă la temperatura de 40-45°C, apoi se efectuează extragerea cu soluție de NaOH de 0,45% timp de 60 min la agitare, centrifugarea, separarea sedimentului, extragerea repetată a substanțelor biologice active cu soluție de NaOH de 0,45% timp de 30 min la agitare, după centrifugare supernatantele obținute se unesc și se supun dializei până la pH 7,5-8,5 cu obținerea extractului proteic. Soluția obținută se standardizează până la concentrația de 10 mg/ml de substanță uscată (MD 3158 F1 2006.10.31);

55 e) Extract de mixoxantofilă 0,75-1,25g;

Extractul se obține prin extragerea repetată a mixoxantofilei din biomasă cu soluție hidroetanolică de 70-96%, cu separarea biomasei prin centrifugare și unificarea extractelor obținute, la care se adaugă hidroxid de kalium de 40%, în raport de 3:1 față de cantitatea de biomasă supusă extracției, se menține 4-6 ore și se adaugă hexan, după care prin decantare

se separă fracția etanolică cu conținut de mixoxantofilă, care se diluează cu apă până la concentrația alcoolului etilic de 45-50%, se centrifughează la 6000 rot./min, iar cristalele obținute se spală cu soluție de etanol de 45-50% și se usucă (MD 4360 B1 2015.07.31).

Talcul îmbibat cu extracte se usucă la temperatura de 45-50°C timp de 24-48 de ore.

- 5 În varianta martor volumul ejaculatului a oscilat în dependență de anotimpul anului de la 288 ml vara la 324 ml iarna, concentrația spermatozoizilor de la 0,15 la 0,16 miliarde/ml, iar conform invenției volumul ejaculatului pe anotimpuri a fost practic identic (schimbări statistic nesemnificative), iar concentrația spermatozoizilor în ejaculat a crescut statistic semnificativ cu 0,17-0,21 miliarde/ml (106,2-140% față de martor) în funcție de anotimp.
- 10

Tabel

Spermograma la vieri la suplinirea rației furajere de bază cu bioprodus complex din biomasa de *Spirulina platensis* CNM-CB-02 în cantitate de 3,3 g per 1 kg de nutreț

Anotimp	Volumul, ml		Mobilitatea, %		Concentrația, miliarde/ml	
	Martor	Experimental	Martor	Experimental	Martor	Experimental
Toamna	310±10,4	308±4,9	80±0,6	81±0,7	0,16±0,01	0,33±0,01
Iarna	324±12,4	314±2,3	81±0,6	84±0,7	0,15±0,01	0,34±0,01
Primăvara	290±11,8	310±4,9	83±0,6	83±0,7	0,15±0,01	0,36±0,01
Vara	288±10,3	312±2,8	83±0,6	85±0,7	0,16±0,01	0,36±0,02

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Антонюк В.С. Биотехнологические способы повышения эффективности оплодотворения сельскохозяйственных животных. Минск, Урожай, 1988, р. 27-33, 148-151
2. MD 3226 F1 2007.01.31

(57) Revendicări:

Procedeu de stimulare a spermatogenezei la vieri, care include hrănirea vierilor cu nutreț, ce conține un adaos de bioprodus pe bază de extracte din biomasa de *Spirulina platensis* CNM-CB-02 în cantitate de 3,3 g per 1 kg de nutreț, care se administrează vierilor în cantitate de 4,0-4,5 kg/cap în perioadele de primăvară și vară, zilnic timp de 45-50 zile, totodată bioprodusul conține, la 1 kg de talc: extract de aminoacizi și oligopeptide 3,5-5 g; extract de fosfolipide 3,5-5 g; extract de proteoglicani, inclusiv polizaharide sulfatate 3,5-5 g; extract proteic 3,5-5 g; extract de mixoxantofilă 0,75-1,25 g.