

## Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2023

## REZUMAT

**20800009.7007.25. Metode și procedee de menținere și conservare a biodiversității în funcție de integritatea gametogenezei și variabilitatea alimentară. Conducător: dr.hab.șt.biol., conf.univ. Ion Balan.**

**Obiective:** 1. Sinteza și analiza informației științifice privind importanța variabilității alimentare în condiții in situ și ex situ asupra derulării procesului de spermatogeneză în menținerea și conservarea biodiversității. 2. Implementarea rezultatelor obținute ale cercetărilor prin studierea proprietăților fecundative ale materialului seminal conservat, inclusiv crioconservat și a posibilităților de reglare a însușirilor de reproducție a descendenților. 3. Cercetarea indicilor cantitativi și calitativi ai materialului seminal și celulelor reproductive în condițiile variabilității dinamicii experimentale ale etapei. 4. Sinteza, analiza și prezentarea informației științifice referitoare la procedeele și recomandările de menținere, conservare și optimizare a diversității obiectelor biologice în funcție de integritatea morfofuncțională a spermatogenezei și variabilitatea alimentară a producătorilor. 5. Elaborarea procedeelelor și recomandărilor de menținere, conservare și optimizare a biodiversității în funcție de integritatea gametogenezei, caracteristica celulelor reproductive și variabilitatea alimentară. 6. Diseminarea și promovarea rezultatelor științifice.

Având în vedere actualitatea aplicării biologiei conservării materialului seminal, în prezentele cercetări s-a ținut cont de aspectele specifice ale morfofuncționalității ciclului integru al spermatogenezei și ale particularităților gameților, atât în condiții fiziologice, cât și în tehnologiile de conservare aplicate în cercetare, precum și s-au cercetat eventualele mecanisme de recuperare a structurilor celulare și nucleare, fiind contribuiți majori la conservarea biodiversității. Prin urmare, s-au evaluat particularitățile acțiunii favorabile ale variabilității alimentare asupra fenomenelor spermatogenezei la om și animale în condiții in situ și ex situ și posibilitățile de influențare asupra evoluției și proprietăților fecundative ale gameților. Cercetările experimentale au fost realizate cu respectarea cerințelor de etică, protecție, drepturi, demnitate, confidențialitate etc, prin asigurarea cerințelor față de sănătate, fiziologie, metabolism, adăposturi, mediu, hrană, apă, remedii și bunăstare, în ansamblu, precum și prin asigurarea condițiilor specifice pentru recoltarea materialului seminal, cu examenul macroscopic imediat și asigurarea condițiilor adecvate de transferare/transportare/manipulare/procesare a materialului seminal în condiții corespunzătoare de laborator și teren.

Cercetările s-au axat pe proprietățile compușilor polifenolici, extrași din produse vegetale autohtone (păducel (*Crataegus monogyna*) – RE-I, nucă verde (*Juglans regia*) și lămâie (*Citrus limon*) – RE-II, cătină alba (*Hippophaë rhamnoides*) – RE-III) prin metode cunoscute cu determinarea concentrațiilor și dozelor optime pentru om și animale la administrarea lor în organism și investigarea biodisponibilității lor în metabolismul organismului masculilor, în special, în procesul evoluției spermatogenezei. Impactul proprietăților polifenolilor s-a cercetat și asupra statutului fiziologic și stării clinice a organismului reproducătorilor și asupra caracteristicilor materialului seminal și celulelor reproductive.

Cercetările experimentale au constatat efecte benefice referitor la favorabilitatea compușilor biologic activi ai polifenolilor RE-I și RE-II asupra menținerii activității fiziologice a procesului de spermatogeneză la cocoș și iepure, precum și manifestă proprietăți evidente referitor la influențarea sănătății sistemului reproductiv, bunăstării și statutului clinic al organismului reproducătorilor, în ansamblu. Dinamica evoluției spermatogenezei la cocoș și iepure sub influența stimulatoare și antioxidantă a compușilor biologic activi polifenolici, în toate condițiile experimentelor realizate, s-a manifestat prin evidente modificări autentice la nivelul volumului materialului seminal, mobilității, concentrației și longevității spermatozoizilor, precum și productivității spermatice.

Menținerea parametrilor fiziologici, ameliorarea proprietăților morfologice și sporirea funcționalității celulelor sexuale masculine la om sunt influențate de particularitățile mecanismelor de acțiune ale substanțelor biologic active ale polifenolilor testați referitor la stimularea procesului de spermatogeneză și energizarea celulelor reproductive. Efectul antioxidant și energetic al polifenolilor la nivelul sistemului reproducător masculin protejează evoluția spermatogenezei, elimină sau aplanează perioadele evolutive vulnerabile ale celulelor, reduce anomaliile spermatozoizilor și, respectiv, poate contribui la ameliorarea fertilității masculine.

În condițiile experimentelor, influența compușilor polifenolici RE-III s-a manifestat prin avantaje relevate la nivel fiziologic, morfologic și funcțional al celulelor reproductive în procesul tehnologic de

procesare a materialului seminal. Proprietățile antioxidative și alte calități specifice ale substanțelor biologic active ale polifenolilor testați în condiții bio-, hipo- și criotermice contribuie la ameliorarea protocolului de procesare biotehnologică a materialului seminal și acordă priorități evidente metodelor existente de menținere a viabilității gameților masculini în condiții artificiale și de conservare a biodiversității resurselor genetice.

Administrarea compușilor polifenolici ai RE-I și RE-II în evoluția procesului de spermatogeneză la cocoș și iepure a sporit activitatea antioxidantă totală a organismului, inclusiv a sistemului reproducător, în condițiile experimentale aplicate. Activitatea antioxidantă totală relevantă a crescut în loturile experimentale, ceea ce în asociere cu proprietățile compușilor biologic activi testați implicite au demonstrat un nivel sporit al hiperactivității sistemului antioxidant, iar sporirea semnificativă a conținutului SOD și CP denotă despre sporirea activității sistemului antioxidant, ca o măsură compensatorie a influenței stresului oxidativ.

Prezența modificărilor semnificative în conținutul și componența aminoacizilor liberi, neesențiali, esențiali, imunoactivi, glicogenici, ketogenici, proteinogenici și a indexului nitrogen al metabolismului în spermatozoizii și plasma seminală de cocoș și iepure, precum și proprietățile aminoacizilor, atestă un potențial antioxidant concludent al compușilor polifenolici ai RE-I și RE-II în condițiile experimentale ale evoluției procesului de spermatogeneză.

## SUMMARY

**20800009.7007.25. Methods and procedures for maintaining and preserving biodiversity depending on the integrity of gametogenesis and food variability. Leader: Doctor habilitate of Biological Sciences, lecturer Ion Balan.**

**Objectives:** 1. Synthesis and analysis of scientific information regarding the importance of food variability in *in situ* and *ex situ* conditions on the development of the spermatogenesis process in the maintenance and conservation of biodiversity. 2. Implementation of the obtained research results by studying the fecundative properties of the preserved, including cryopreserved, semen and the possibilities of regulating the reproductive characteristics of the offspring. 3. The study of the quantitative and qualitative indices of the semen and reproductive cells under the conditions of the variability of the experimental dynamics of the stage. 4. Synthesis, analysis and presentation of scientific information regarding the procedures and recommendations for maintaining, preserving and optimizing the diversity of biological objects depending on the morphofunctional integrity of spermatogenesis and the food variability of the producers. 5. Elaboration of procedures and recommendations for maintaining, preserving and optimizing biodiversity depending on the integrity of gametogenesis, the characteristics of reproductive cells and food variability. 6. Dissemination and promotion of scientific results.

Considering the topicality of the application of the biology of semen conservation, in the present research the specific aspects of the morphofunctionality of the integral cycle of spermatogenesis and the particularities of the gametes were taken into account, both in physiological conditions and in the conservation, technologies applied in the research. Also, possible recovery mechanisms of cellular and nuclear structures, major contributors to biodiversity conservation, were researched. Therefore, the particularities of the favorable action of dietary variability on the phenomena of spermatogenesis in humans and animals in *in situ* and *ex situ* conditions and the possibilities of influencing the evolution and fecundative properties of the gametes were evaluated. The experimental research was carried out in compliance with the requirements of ethics, protection, rights, dignity, confidentiality, etc., by ensuring the requirements for health, physiology, metabolism, shelters, environment, food, water, remedies and well-being, as a whole, as well as by ensuring specific conditions for semen collection, with immediate macroscopic examination and ensuring adequate conditions for transfer/transport/handling/processing of semen under appropriate laboratory and field conditions.

The research focused on the properties of polyphenolic compounds, extracted from native plant products (hawthorn (*Crataegus monogyna*) – RE-I, green walnut (*Juglans regia*) and lemon (*Citrus limon*) – RE-II, sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) – RE -III) by known methods with the determination of the optimal concentrations and doses for humans and animals when they are administered in the body and the investigation of their bioavailability in the metabolism of the male organism, in particular, in the process of the evolution of spermatogenesis. The impact of the properties of polyphenols was also investigated on the physiological status and clinical condition of the reproductive organism and on the characteristics of the semen and reproductive cells.

The experimental research has found beneficial effects regarding the favorability of the biologically active compounds of RE-I and RE-II polyphenols on maintaining the physiological activity of the spermatogenesis process in roosters and rabbits, as well as manifests obvious properties regarding influencing the health of the reproductive system, well-being and clinical status of the reproductive organism, as a whole. The dynamics of the evolution of spermatogenesis in roosters and rabbits under the stimulating and antioxidant influence of biologically active polyphenolic compounds, in all the conditions of the performed experiments, was manifested by obvious genuine changes in the semen volume level, mobility, concentration and longevity of spermatozoa, as well as sperm productivity.

The maintenance of physiological parameters, the improvement of morphological properties and the enhancement of the functionality of male sex cells in humans are influenced by the particularities of the mechanisms of action of the biologically active substances of polyphenols tested in relation to the stimulation of the spermatogenesis process and the energization of reproductive cells. The antioxidant and energetic effect of polyphenols at the level of the male reproductive system protects the evolution of spermatogenesis, eliminates or flattens the vulnerable evolutionary periods of cells, reduces sperm abnormalities and, respectively, can contribute to the improvement of male fertility.

Under the conditions of the experiments, the influence of RE-III polyphenolic compounds was manifested by revealed advantages at the physiological, morphological and functional level of the reproductive cells in the technological process of semen processing. Antioxidative properties and other specific qualities of biologically active substances of polyphenols tested under bio-, hypo- and cryothermic conditions contribute to the improvement of the protocol of biotechnological processing of semen and give

clear priorities to the existing methods of maintaining the viability of male gametes in artificial conditions and preservation of the biodiversity of genetic resources.

The administration of RE-I and RE-II polyphenolic compounds in the evolution of the spermatogenesis process in roosters and rabbits increased the total antioxidant activity of the organism, including the reproductive system, under the applied experimental conditions. The total antioxidant activity significantly increased in the experimental groups, which in association with the properties of the biologically active compounds tested implicitly demonstrated an increased level of the hyperactivity of the antioxidant system, and the significant increase in SOD and CP content indicates an increase in the activity of the antioxidant system, as a compensatory measure of the influence of oxidative stress.

The significant changes in the content and composition of free, non-essential, essential, immunoactive, glycolytic, ketogenic, proteinogenic amino acids and the nitrogen index of metabolism in rooster and rabbit spermatozoa and seminal plasma, as well as amino acid properties, attests to a conclusive antioxidant potential of polyphenolic compounds of RE-I and RE-II in the experimental conditions of the evolution of the spermatogenesis process.