

REZUMAT

Cuvinte-cheie: Bivolite, embriotransfer, estru, biotehnica reproducției.

Teza de doctorat intitulată **Cercetări privind implementarea unor metode biotehnice de stimulare a funcției de reproducere la bivolițe (Bivol Indigen Carpatin).**

Lucrarea este structurată, conform normelor în vigoare, în două părți principale: prima parte, intitulată „Stadiul actual al cunoașterii” care cuprinde 46 pagini și partea a 2-a, „Cercetări proprii”, cu un număr de 123 de pagini. Teza are un număr total de 200 pagini, fiind ilustrată în 116 de figure și 33 tabele. Pentru redactarea ei, au fost consultate un număr de 207 titluri bibliografice.

Prima parte „**Stadiul actual al cunoașterii**” cuprinde 4 capitole ce descriu succint datele legate despre: originea și taxonomia bubalinelor, morfofiziologia genital la bivoliță, parturiția și perioada puerperală și metode biotehnice de dirijare a funcției de reproducție.

Partea a doua „**Cercetări proprii**” este structurată în 8 capitole organizate după normele de redactare, și cuprinde material și metodă, rezultate și discuții și concluzii parțiale. Teza se încheie cu un capitol de concluzii generale, bibliografie și anexe.

Capitolul 5 este intitulat **Scopul și obiectivele tezei**. Cercetările au urmărit preabilitatea managementului reproducție la bivolițe, astfel s-au aplicat ca metode de lucru: -inducerea estrului prin utilizarea diverselor scheme terapeutice și alegerea metodelor cu cele mai bune rezultate; - programarea momentului pentru FTAI cu material seminal; -diagnosticarea și terapia afecțiunilor ovariene; -managemetul perioadei puerperale; -diagnosticul de gestație și monitorizarea ei. S-a urmarit și posibilitatea de aplicare a unor biotehnologii de reproducție moderne la bivolițe. Acestea sunt: -obținerea și recoltarea embrionilor in vivo; -recoltarea ovocitelor și evaluarea calității lor; De asemenea, un alt obiectiv al tezei a fost analizarea caracteristicilor macroscopice și microscopice ale uterului și ovarelor. Cercetările au fost organizate în 3 locații diferite: o fermă din România, una din Italia, și o stațiune de cercetare.

Capitolul 6 descrie **Cercetări privind monitorizarea sezonieră a funcției de reproducție la bivoliță în condiții naturale de creștere**. Din punct de vedere al manifestării clinice a fazei estrale, caracterizarea estrului la bivolițe a fost slab exprimată clinic, edemul vulvar redus, mucus puțin abundent și redus ca volum. Comportamental, bivolița în estru a avut apetit mai redus, a fost ușor agitată și curioasă. Pe sezoane, estru spontan a fost diagnosticat la 50,8% primăvara, 30,5% vara, 13,6% toamna și 5,1% iarna. Frecvent ovarul drept are o dimensiune mai mare (17,8mm) față de cel stâng.(15,0mm). Pe sezoane, estru spontan la BIR a fost diagnosticat la 50,8% primăvara, 30,5% vara, 13,6% toamna și 5,1% iarna.

Capitolul 7 cuprinde **Cercetări privind diagnosticul, incidența și tratamentul afecțiunilor ginecologice la bivolițe**. Frecvența retențiile placentare în pare să aibă oincidență crescută în lunile reci ale anilor. Diagnosticul ecografic diferențial între chistul folicular tecal și cel luteinic a fost facil; chistul folicular luteinic având un perete mult mai gros, decât chistul folicular tecal, foarte clar vizibil pe ecografie. Ținând cont de sezonalitatea bivoliților și că ovarele au dimensiuni reduse, dar cu reactivitate mare, hipotrofiile de gradul I și II pot fi tratate prin terapie hormonală specifică asociată cu o alimentație echilibrată și terapie neuroreflexă. Din cazurile

tratate cu chiști foliculari, 40% din bivolițele au intrat în călduri la peste 21 de zile, și la 17 zile 20% din cele tratate de chist luteinic (HCG și PgF2 α).

Capitolul 8 detaliază **Cercetări privind utilizarea unor metode biotehnice de inducere a estrului la bivolițe**. Pentru a se menține un interval de 13 - 14 luni între fătări la bivolițe, înseminarea trebuie să aibă loc în intervalul de 85 - 115 zile după fătare. Inducerea estrului prin administrarea de factor luteolitic (PGF) la bivolițe are o valoare medie de 58,3% (25% în urma unei singure administrări 33,3% după adou-a). Inducerea estrului la vițele în extrasezon (vara) a avut o reușită de 88,2 %. Rata de gestație în sezonul de vară a atins valori de 76,5% în urma monteii dirijate. În cazul terapiei cu P4, PGF și PMSG în sezonul de vară au fost diagnosticate cazuri de chisti luteinici în proporție de 16,6%.

Capitolul 9 prezintă **Provocarea estrului, a ovulației și stabilirea momentului optim de însămânțare artificială în ferma Bradano River (Italia) (OvSynch+FTAI)**. Protocolul utilizat de noi în acest studiu, organizează activitatea de reproducție în fermă, astfel încât să existe o corelație echilibrată între numărul de animale, resursa umană și productivitate. Eficiența economică rezultă din maximizarea aplicării biotehnologiilor de reproducție, biosecuritate și alimentație.

Fecunditatea medie în ferma BR în perioada 2015-2017 a fost de 73,8%, fiind diagnosticate gestante un număr de 456 de bivolițe din 618 IA. Media fecundității la nulipare a înregistrat valoarea 78,5%, la primipare 76,6% și la pluripare de 70,9%. Fecunditatea medie totală a sezonului cald a fost de 71,01%, iar a sezonului rece de 77,14%. Analizând efectul anotimpului asupra ratei concepției se observă că la primipare această influență a fost considerabil mai mare decât la multipare. În cazul femelelor primipare, în perioada de toamnă, rata concepției a fost mult mai mare, cu 15 % față de rezultatele din iarnă.

Capitolul 10 evidențiază **Modalități de creștere a valorii potențialului genetic la bivolițe prin utilizarea biotehnologiilor de reproducție**. Rata concepției totală a protocolului de OvSynch cu FTIA unicornuală și cu spermă sexată în ferma Terra di Bufala, a fost de 45%. Pe categorii de tauri procentele au fost 40% la Oro și 50% la Aton. La parturiție au fost obținuți 9 feteși vii și viabili din care raportul dintre sexe a fost de 88,8% în favoarea celui femel. Afirmăm ca obiectivul de creștere a potențialului genetic la bivolițe prin folosire însămânțării artificiale cu material sexat poate deveni realizabil.

Dezvoltarea embrionilor de bubaline au o evoluție mai rapidă cu aproximativ 24 h față de embrionii bovini. Așadar, embrionul bovin în ziua a 7-a după fertilizare se află în stadiul de dezvoltare de blastocyst expandat, în timp ce același stadiu este atins la bubaline în ziua a 6-a de dezvoltare. Tratamentul de poliovulație P4 11 zile, PG-PMSG 2500 U.I. a avut o reactivitate bună obținându-se în ziua flusingului patru embrioni și o rata a fătării de 25 %.

Conform Asociației Române de Embrio Transfer (Raport ARET 2019 și AETE), a fost raportată fătarea **primul vițel de bivol obținut prin ET** la Bivolul Indigen Românesc.

Sincronizarea receptoarelor a fost făcută după schema P4-PG-PMSG-HCG procesul ovulator a fost de 100%, prin evidențierea CL eflorescent la 7 zile.

Datele obținute de noi în urma experimentelor de embrio-transfer la bivolițe, au fost raportate la IETS - Societatea Internațională de Embriotransfer din SUA, și publicate în decembrie 2019, iar la conferința anuală din data de 17 ianuarie 2020 au fost publicate activitățile privind ET la nivel internațional din anul 2018. La capitolul alte specii –reprezentate de BUFFALO, în Europa în anul 2018, numai Italia (producția in vitro) și **România** (in vivo) au raportat asemenea proceduri.

Din cauza valurilor foliculare intermitente și cu evoluția unui număr mic de foliculi evolutivi dublată și de influența sezonality, pe suprafața ovarelor au fost identificați un număr redus de foliculi antrali ce au putut fi punctați și aspirați. Metoda de recoltare prin puncta și aspirația foliculilor de bivoliță are un procent de reușită de 45,45%, raportul folicul / ovocită identificată a fost de 11/5. După recoltarea ovocitelor și evaluarea calității lor, 42,85% au reprezentat ovocite cultivabile, acestea au un aspect uniform cu structură asemănătoare și grad de dezvoltare asemănător, reprezentând o populație de ovocite care pot continua cu succes etapele următoare ale fertilizării in vitro. Comparativ cu bovinele (20-40 ovocite/ovar), numărul de ovocite recoltate este mic (9,3 ovocite/ ovar), și generează un procent de sub 50% ovocite de bună calitate ce pot fi cultivate și folosite în etapele ulterioare FIV-ului.

Capitolul 11, intitulat **Particularități morfo-funcționale ale aparatului genital la bivoliță**, a urmărit identificarea particularităților obstetrical-anatomice, histologice și histopatologice ale ovarelor și segmentelor genitale.

Particularitățile morfologice ale uterului la bivoliță evidențiază un cervix de 7/4 cm de formă cilindrică și cartilaginoasă, corpul uterin scurt de 2 cm cu un sept intercornual foarte puternic și lung de 6 cm, ligamentul intercornual acompaniază partea lipită a coarnelor uterine pe aproximativ jumătate din lungimea lor, aproximativ 8 cm, coarnele uterine de 10 cm au un aspect tubular amfractuos și sinuos cu multe boseluri. Simetria coarnelor uterine la 2 luni de gestație este încă menținută, cu un diametru de 3 cm, peretele uterin de 3 mm este ferm și tonic, se evidențiază sacul embrionar cu aceeași dimensiune ca uterul după secționare și embrionul are o mărime de 2/1 cm. În medie, ovarele la bivoliță au înregistrat următoarele repere morfometrice: lungime – 24,3 mm, lățime – 18,25 mm, grosime – 13,15 mm și o greutate de 4,53 g. Afecțiunile ovariene diagnosticate au fost hipotrofiile ovariene de grad I (14,51%), chisti ovarieni (11,29% din care 42,86% chisti ai corpului luteal, 28,57% chisti luteinici și 28,57% chisti foliculari) și aderențe ovaro-bursale (1,61%).

Capitolul 12 descrie **Utilizarea ultrasonografiei în monitorizarea funcției de reproducție la bivolițe**. Sunt prezentate rezultate ale diagnosticului de gestație și identificarea sexului fetal (sexare ultrasonografică).

Datorită tonicității corpului uterin și a peretelui uterin mai gros, asimetria uterina între cele două coarne apare sesizabilă mai târziu ca la vacă, în intervalul 60-70 zile. Acuratețea diagnosticului de gestație la bivolițul indigen românesc (BIR) prin palpate transrectală în perioada 50-60 zile de la estru a fost de 70,83%, iar în perioada 60-70 de zile este de 98,04%. Acumularea de lichide fetale este scăzută până în ziua 40 a gestației, dar ulterior există o creștere semnificativă a volumului de lichide fetale și a dimensiunii fetale, cu o creștere consecventă a dimensiunii uterului.

Atât tuberculii genitali masculi, cât și cei femeli apar pe ecran ca structuri bilobate a căror ecogenitate este similară cu cea a țesutului osos. Examinarea bivolițelor pentru stabilirea sexului fetal se poate face între zilele 60 și 120 de gestație, dar fereastra ideală de oportunitate este între zilele 70 și 85. Chiar dacă tuberculul genital este vizibil încă din ziua 51, acesta nu ajunge în poziția sa definitivă înainte de ziua 58.

