

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ
"ION IONESCU DE LA BRAD" IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA OBSTETRICĂ ȘI ANDROLOGIE VETERINARĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

Doctorand,
Liliana Margareta GHINEȚ (CIORNEI)

Conducător de doctorat,
Prof. univ. dr. Dan DRUGOCIU

IAȘI 2021

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
"ION IONESCU DE LA BRAD" IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA OBSTETRICĂ ȘI ANDROLOGIE VETERINARĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

**CERCETĂRI PRIVIND IMPLEMENTAREA UNOR METODE
BIOTEHNICE DE STIMULARE A FUNCȚIEI DE
REPRODUCERE LA BIVOLIȚE (BIVOL INDIGEN CARPATIN)**

Doctorand,
Liliana Margareta GHINEȚ (CIORNEI)

Conducător de doctorat,
Prof. univ. dr. Dan DRUGOCIU

IAȘI 2021

**UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND
VETERINARY MEDICINE
"ION IONESCU DE LA BRAD" IAȘI
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE
DOCTORAL SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
DOMAIN: VETERINARY MEDICINE
SPECIALIZATION: VETERINARY OBSTETRICS AND ANDROLOGY**

DOCTORAL THESIS

**RESEARCH ON THE IMPLEMENTATION OF
BIOTECHNICAL METHODS FOR STIMULATING THE
REPRODUCTIVE FUNCTION OF CAW-BUFFALOES
(INDIGENOUS CARPATHIAN BUFFALO)**

PhD student,
Liliana Margareta GHINETȚ (CIORNEI)

Scientific coordinator,
Prof. Dan DRUGOCIU, PhD

IAȘI 2021

CUPRINS

LISTA DE ABREVIERI	5
INTRODUCERE	6
REZUMAT	8
1. ASPECTE PRIVIND ORIGINEA ȘI TAXONOMIA BUBALINELOR ÎN ROMÂNIA	16
1.1 Scurt istoric al evoluției bivolițelor crescute în România	16
1.2. Însușirile morfologice ale bubalinelor crescute în România	18
2. MORFOLOGIA GENITALĂ LA BIVOLIȚĂ	20
2.1. Morfologia aparatului genital la bivoliță	20
2.2. Fiziologia genitală la bivoliță	23
2.2.1 Ovogeneza	24
2.2.2 Foliculogeneza	24
2.2.3 Ciclu sexual la bivoliță	25
2.2.4 Endocrinologia reproducerii	27
3. PARTURIȚIA ȘI PERIOADA PUERPERALĂ LA BIVOLIȚĂ	28
3.1. Parturiția la bivoliță	28
3.1.1 Semne prodromale	28
3.1.2. Etapele parturiției	29
3.2. Puerperium la bivoliță	30
3.2.1. Involuția uterină	30
3.2.2. Puerperiumul clinic	31
3.3. Afecțiunile perioadei puerperale la bivoliță	31
3.3.1. Afecțiuni ovariene	32
3.3.2 Afecțiuni uterine	35
3.4. Refacerea axului hipotalamo-hipofizo-ovarian în perioada puerperală la bivoliță	40
3.4.1 Dinamica foliculară în perioada postpartum	40
4. METODE BIOTEHNICE DE DIRIJARE A ESTRULUI LA BIVOLIȚE	42
4.1. Biotehnica însămânțărilor artificiale la bivoliță	42
4.1.1 Metode de însămânțare artificială la bivolițe	43
4.1.2. Hormonii utilizați în sincronizarea estrului la bivolițe	47
4.1.3. Protocoale terapeutice privind sincronizarea estrului la bivolițe	50
4.2. Biotehnologia embrio-transferului la bubaline	55
4.2.1 Istoricul embrio-transferului la bivoliță	56
4.2.2. Dezvoltarea embrionară	56
4.2.3. Embriotransferul Direct (<i>In VIVO</i>)	58
4.2.4. Fertilizarea <i>IN VITRO</i> în transfer de embrioni	60
5. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI	62
5.1. Cadrul organizatoric în care s-au desfășurat cercetările	62
5.1.1. Ferma TERRA DI BUFALA – Războieni, Iași	62
5.1.2. Stațiune de cercetare și dezvoltare a bubalinelor Șercaia, Brașov	69
5.1.3. Ferma BRADANO RIVER - Irsinia, Italia	71
5.2. Concluzii parțiale	74
6. CERCETĂRI PRIVIND MONITORIZAREA SEZONIERĂ A FUNCȚIEI DE REPRODUCȚIE LA BIVOLIȚĂ ÎN CONDIȚII NATURALE DE CREȘTERE	75
6.1. Material și metodă	75
6.2. Rezultate și discuții	76
6.2.1. Evoluția în dinamică a volumului ovarian, în cadrul ciclului sexual la bivoliță	76
6.2.2. Sezonalitatea ciclului sexual la bivolițe și desfășurarea estrului	81
6.2.3. Indicii de reproducție utilizați la bivolițe	84
6.3. Concluzii parțiale	86

7. CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL, INCIDENȚA ȘI TERAPIA AFECȚIUNILOR GINECOLOGICE LA BIVOLIȚE	87
7.1. Material și metodă	87
7.2. Rezultate și discuții	90
7.2.1. Diagnosticul, incidența și tratamentul tulburărilor trofice ovariene	90
7.2.2. Diagnosticul, incidența și tratamentul tulburărilor funcționale ovariene ...	94
7.2.3. Diagnosticul, incidența și tratamentul retenției anexelor fetale	99
7.2.4. Diagnosticul, incidența și tratamentul afecțiunilor inflamatorii uterine....	101
7.3. Concluzii parțiale	102
8. CERCETĂRI PRIVIND UTILIZAREA UNOR METODE BIOTEHNICE DE INDUCERE A ESTRULUI LA BIVOLIȚE	104
8.1. Utilizarea PGF2 α în inducerea luteolizei	104
8.1.1 Material și metodă	104
8.1.2 Rezultate și discuții.....	105
8.2. Inducerea estrului la bivolițe prin metode biotehnice	106
8.2.1 Material și metodă	106
8.2.2 Rezultate și discuții.....	107
8.3. Concluzii parțiale	108
9. PROVOCARA ESTRULUI, A OVULAȚIEI ȘI STABILIREA MOMENTULUI OPTIM DE ÎNSĂMÂNȚARE ARTIFICIALĂ ÎN FERMA BRADANO RIVER	109
9.1 Material și metodă	109
9.2 Rezultate și discuții	111
9.3. Concluzii parțiale	116
10. MODALITĂȚI DE CREȘTERE A VALORII POTENȚIALULUI GENETIC LA BIVOLIȚE PRIN UTILIZAREA BIOTEHNOLOGIILOR DE REPRODUCȚIE	118
10.1. Material și metodă	118
10.2 Cercetări privind înșămânțarea artificială la bivoliță	121
10.2.1 Utilizarea protocolului Ovsynch și FTAI unicornuală cu material seminal sexat	121
10.2.2 Implementarea înșămânțării artificiale în ferma BRADANO RIVER	124
10.2.3 Aplicarea înșămânțării artificiale în S.C.D.C.B. Șercaia	125
10.3 Cercetări privind biotehnica embriotransferului la bivoliță	127
10.3.1 Protocoale de embriotransfer <i>in vivo</i> la bivoliță.....	127
10.3.2 Tehnici de recoltare a ovocitelor	138
10.3.3 Aprecierea morfologică a ovocitelor pentru maturarea „ <i>in vitro</i> ”	140
10.4. Concluzii parțiale	145
11. PARTICULARITĂȚI MORFO-FUNCȚIONALE ALE APARATULUI GENITAL LA BIVOLIȚĂ	147
11.1. Material și metodă	147
11.2. Rezultate și discuții	148
11.2.1 Descrierea obstetrical-ginecologică și biometrică a uterului la bivolițele adulte	148
11.2.2 Aspecte histologice ale ovarelor și uterului la bivoliță	161
11.2.3 Aspecte histopatologice ale ovarului și uterului la bivoliță	164
12. UTILIZAREA ULTRASONOGRAFIEI ÎN MONITORIZAREA FUNCȚIEI DE REPRODUCȚIE LA BIVOLIȚE	170
12.1 Material și metodă	170
12.2 Diagnosticul și monitorizarea gestației	170
12.3 Concluzii parțiale	178
13. CONCLUZII FINALE ȘI PERSPECTIVE DE CERCETARE	179
BIBLIOGRAFIE	185
INDEX FIGURI ȘI TABELE	194

CONTENT

LIST OF ABBREVIATIONS	5
INTRODUCTION	7
SUMMARY.....	12
1. ASPECTS REGARDING THE ORIGIN AND TAXONOMY OF BUFFALO IN ROMANIA.....	166
1.1 Brief history of the evolution of buffaloes raised in Romania.....	16
1.2. Morphological characteristics of buffaloes raised in Romania.....	18
2. GENITAL MORPHOLOGY IN BUFFALO COW	200
2.1 Buffalo genital morphology.....	20
2.2 Genital physiology in buffalo.....	23
2.2.1 Ovogenesis	24
2.2.2 Folliculogenesis	24
2.2.3 Sex cycle in the buffalo	25
2.2.4 Endocrinology of reproduction	27
3. PARTURITION AND THE PUERPERAL PERIOD IN THE BUFFALO COW.....	28
3.1. Buffalo parturition.....	28
3.1.1 Prodromal signs	28
3.1.2. Stages of parturition	29
3.2. Buffalo puerperium	30
3.2.1. Uterine involution	30
3.2.2. Clinical puerperium	31
3.3. Buffalo diseases of the puerperal period	31
3.3.1. Ovarian diseases	32
3.3.2 Uterine disorders	35
3.4. Restoration of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis in the puerperal period in buffalo.....	40
3.4.1 Follicular dynamics in the postpartum period	40
4. BIOTECHNICAL METHODS FOR DIRECTING ESTRUS IN BUFFALO COWS.....	422
4.1. Biotechnology of artificial insemination in buffalo.....	42
4.1.1 Methods of artificial insemination in buffaloes	43
4.1.2. Hormones used in the synchronization of estrus in buffaloes	47
4.1.3. Therapeutic protocols on estrus synchronization in buffaloes	50
4.2. Embryo-transfer biotechnology in buffaloes	55
4.2.1 Buffalo's history of embryo-transfer	56
4.2.2. Embryonic development	56
4.2.3. Direct Embryo Transfer (In VIVO)	58
4.2.4. IN VITRO fertilization in embryo transfer	60
5. PURPOSE AND OBJECTIVES OF THE THESIS.....	62.62
5.1. The organizational framework in which the research was carried out	62
5.1.1. TERRA DI BUFALA Farm - Războieni, Iași	62
5.1.2. Buffalo Research and Development Station Șercaia, Brașov	69
5.1.3. Farm BRADANO RIVER - Irsinia, Italy	71
5.2. Partial conclusions.....	74
6. RESEARCH ON SEASONAL MONITORING OF THE REPRODUCTIVE FUNCTION IN BUFFALO IN NATURAL GROWTH CONDITIONS	75
6.1. Material and method	75
6.2. Results and discussions	76
6.2.1. The dynamic evolution of ovarian volume during the buffalo sex cycle.....	76
6.2.2. The seasonality of the sexual cycle in buffaloes	81
6.2.3. Reproduction indices used in buffaloes	84
6.3. Partial conclusions	86
7. RESEARCH ON THE DIAGNOSIS, INCIDENCE AND TREATMENT OF GYNECOLOGICAL DISEASES IN BUFFALO	87
7.1. Material and method.....	87

7.2. Results and discussions	90
7.2.1. Diagnosis, incidence and treatment of ovarian trophic disorders	90
7.2.2. Diagnosis, incidence and treatment of ovarian functional disorders.....	94
7.2.3. Diagnosis, incidence and treatment of retention of fetal appendages.....	99
7.2.4. Diagnosis, incidence and treatment of inflammatory bowel diseases.....	100
7.3. Partial conclusions	102
8. RESEARCH ON THE USE OF BIOTECHNICAL METHODS FOR INDUCING ESTRUS IN BIVOLITES	10404
8.1. Use of PGF2 in the induction of luteolysis	104
8.1.1 Material and method	104
8.1.2 Results and discussions	105
8.2. Induction of estrus in buffaloes by biotechnical methods	106
8.2.1 Material and method	106
8.2.2 Results and discussions	107
8.3. Partial conclusions	108
9. CHALLENGE OF ESTRUS, OVULATION AND FIXED TIMES OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN THE BRADANO RIVER FARM.....	10909
9.1 Material and method	109
9.2 Results and discussions	111
9.3. Partial conclusions	116
10. POSSIBILITIES OF INCREASING THE VALUE OF GENETIC POTENTIAL IN BUFFALOS BY USING DR REPRODUCTIVE BIOTECHNOLOGIES.....	118
10.1. Material and method	118
10.2 Research on artificial insemination in buffalo	121
10.2.1 Use of Ovsynch and FTAI unicornual protocol with sexed semen	121
10.2.2 Implementation of artificial insemination in the BRADANO RIVER farm .	124
10.2.3 Application of artificial insemination in S.C.D.C.B. Șercaia	125
10.3 Research on the biotechnology of embryo transfer to buffalo	127
10.3.1 In vivo embryo transfer protocols in buffaloes	127
10.3.2 Oocyte harvesting techniques	138
10.3.3 Morphological assessment of oocytes for "in vitro" maturation	140
10.4. Partial conclusions.....	145
11. MORPHOFUNCTIONAL PARTICULARITIES OF THE GENITAL SYSTEM IN BUFFALO	14747
11.1. Material and method.....	147
11.2. Results and discussions	148
11.2.1 Obstetric-gynecological and biometric description in buffaloes	148
11.2.2 Histological aspects of the ovary and uterus in buffalo	161
11.2.3 Histopathological aspects of the buffalo ovary and uterus	164
12. USE OF ULTRASONOGRAPHY IN MONITORING THE REPRODUCTIVE FUNCTION IN BUFFALOES.....	170170
12.1 Material and method	170
12.2 Diagnosis and monitoring of pregnancy	170
12.3 Partial conclusions	178
13. FINAL CONCLUSIONS AND RESEARCH PERSPECTIVES.....	179
References.....	185
INDEX FIGURES AND TABLES	193

LISTA DE ABREVIERI
LIST OF ABBREVIATIONS

Abreviere	Descriere în lb. română	Descriere engleză
CL	corp luteal	corpus luteum
FTAI	timp fix al însămânțării	fixed times artificial insemination
FSH	hormonul de dezvoltare foliculară	follicular stimulation hormon
F	fecundație	fecundation
FD	folicul dominant	dominant follicle
GnRH	factor de eliberare a gonadotropinelor	gonadotropin releasing hormone
IA	însămânțare artificială	Artificial insemination
Kg	kilogram	Kilo
L	Litru	Litre
LH	hormonul luteinizant	luteinizing hormone
P4	progesteron	progesterone
PGF2 α	prostaglandina F2 α	prostaglandin F2 α
PMN	polimorfonucleare	polymorphonuclear
PP	postpartum	postpartum
PRID	dispozitiv cu eliberare intravaginală de progesteron	Progesterone release intravaginal device
SP	service periodul	service period
SU	substanță uscată	dry substance
UI	unități internaționale	international units
ml	mililitru	Milliliter
μ m	micrometru	Micrometer
cm	centimetru	Centimeter
mm	milimetru	Millimeter
COC	complex ovocită cumulus	Cumulus Oocyte Complex
SP	perioada de serviciu	Service Period
CI	interval de fătare	Calving Interval
IG	indice de gestație	Gestation index
FD	folicul dominant	the dominant follicle
VF	val folicular	follicular wave
CLP	corp luteal persistent	persistent corpus luteum
LTH	prolactina	Prolactin
OPU	recoltarea ovocitelor transvaginal	Ovum Pick Up
POV	polioovulație	polioovulation

INTRODUCERE

Deși bivoli prezintă unele similitudini cu bovinele în ceea ce privește diferite procese de reproducere, există o mulțime de caracteristici care sunt diferite și o înțelegere aprofundată a acestor diferențe este cu adevărat importantă pentru gestionarea eficientă a reproducerii la această specie.

Importanța creșterii bubalinelor trebuie interpretată prin valoarea economică a acestora, raportată la zona de formare și de răspândire, la posibilitățile de extindere și de valorificare a unor teritorii în care taurinele nu se pot adapta și nu asigură producții corespunzătoare. Printre țările mari crescătoare de bubaline se înscriu: India, Pakistan, Vietnam, Egipt, Nepal etc. În România există un efectiv total de bubaline de aproximativ 19000 (FAO, 2019) de animale, repartizate majoritar în județele: Sălaj, Cluj, Brașov, Maramureș, Sibiu, Bihor, Arad, Satu Mare, s.a.

Din punct de vedere sanitar veterinar, se are în vedere creșterea productivității bubalinelor prin depistarea precoce și, pe cât posibil prevenirea, stărilor de boală, cu precădere a celor care au drept țintă aparatul genital.

Evoluția normală sau patologică a funcției de reproducere și reproducție este influențată de o serie de factori exo- și endogeni cum sunt furajarea, factorii de zooigienă, exploatarea animalelor, intervenția și persistența factorilor stresanți, ce cauzează o varietate de tulburări care prelungesc intervalul de la fătare la concepție, sau adesea, concepția devine imposibilă, fapt care duce la mari pierderi economice.

Aplicarea terapiei, dar mai ales combaterea tulburărilor de reproducție prin metode clasice, presupun costuri foarte mari, de aceea interesul de a putea reduce service period- ul la bivoliță, prin implementarea ecografiei ca metodă modernă și curentă de diagnostic și, prin aceasta de a mări productivitatea, este cu atât mai mare.

Unele dintre limitările reproducerii la bivoli includ pubertatea întârziată, vârsta mai mare la prima fătare, perioada lungă de post-partum, perioada lungă de anestr, detectarea slabă a căldurilor și rata de concepție scăzută. Tehnologii de reproducere asistată, precum inseminarea artificială, ovulația multiplă și transferul de embrioni au fost introduse pentru a depăși aceste ineficiențe și pentru a genera, din punct de vedere genetic un câștig pentru această specie într-o manieră planificată.

Principalele elemente de care sunt preocupați crescători și oamenii de știință din țara noastră privesc aplicarea unui program de ameliorare a bubalinelor, elaborarea de noi tehnologii de exploatare și optimizarea diferențiată a celor existente, care să conducă la un progres genetic apreciabil.

INTRODUCTION

The importance of raising buffaloes must be interpreted by their economic value, in relation to the area of formation and spread, the possibilities of expanding and exploiting territories in which cattle can not adapt and do not provide adequate production. Buffaloes account for about 10% of the world's cattle population. In countries with large numbers of buffaloes, the economic contribution of this species is significant, given that other species of cattle are difficult to adapt, or achieve much lower levels of production. Among the large buffalo-growing countries are: India, Pakistan, Vietnam, Egypt, Nepal, etc. In Romania, there is a total number of buffaloes of approximately 19,000 (FAO, 2019) animals, distributed mainly in the counties: Sălaj, Cluj, Braşov, Maramureş, Sibiu, Bihor, Arad, Satu Mare, s.a.

From a veterinary sanitary point of view, it is considered to increase the productivity of buffaloes by early detection and, as far as possible prevention, disease conditions - especially those that target the genital tract. When referring to buffalo's uterine and ovarian pathology, the results obtained are inextricably linked to the quality of the feed, the microclimate conditions, the quality of the veterinary medical act, but also the quality of the medicinal or hormonal product used.

The normal or pathological evolution of the reproductive and reproductive function is influenced by a series of exo- and endogenous factors such as: feeding, zoo hygiene factors, animal exploitation, intervention and persistence of stressors, cause a variety of disorders that prolong the interval from calving at conception, or often, conception becomes impossible, which leads to great economic losses.

The application of therapy, but especially the fight against reproductive disorders by classical methods, involve very high costs, therefore the interest to be able to reduce the service period at the buffalo, by implementing ultrasound as a modern and current diagnostic method and, by this to increase productivity is even higher.

Applying modern complementary diagnostic methods, such as ultrasound, increase the chances of increasing productivity and profitability in the buffalo, by reducing the costs of drugs, labor, reducing stress on animals, avoiding repeated labor, reducing the service period, etc. .

Some of the limitations of buffalo breeding include: delayed puberty, older age at first calving, long postpartum period, long period of anesthesia, poor heat detection and low conception rate. Assisted breeding technologies such as artificial insemination, multiple ovulation and embryo transfer have been introduced to overcome these inefficiencies and to genetically generate a gain for this species in a planned manner.

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 bivolite (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 bivolită, 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, si 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 pretabilitatea managementului reproducție la bivolite, 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 urmărit și posibilitatea de aplicare a unor biotehnologii de reproducție moderne la bivolite. 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 bivolită în condiții naturale de creștere**. Din punct de vedere al manifestării clinice a fazei estrale, caracterizarea estrului la bivolite a fost slab exprimată clinic, edemul vulvar redus, mucus puțin abundent și redus ca volum. Comportamental, bivolita 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 o incidență 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 bivolițelor 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 PgF2α).

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, inseminarea 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 înșămânțare 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 fetoși 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 insămânțării 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 punționați și aspirați. Metoda de recoltare prin punția 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, reprezentînd 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 hipotrofii ovariene de grad I (14,51%), chisti ovarieni (11,29% din care 42,86% chiști 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 tarziu ca la vacă, în intervalul 60-70 zile. Acuratețea diagnosticului de gestație la bivoul indigen românesc (BIR) prin palpare 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 similar cu cel al 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.

SUMMARY

Keywords: Buffaloes, embryo transfer, estrus, reproductive biotechnology.

The doctoral thesis entitled **Research on the implementation of biotechnical methods to stimulate the reproductive function of buffaloes (Indigenous Buffalo Carpatin).**

The paper is structured, according to the rules in force, in two main parts: the first part, entitled "Current state of knowledge" which comprises 46 pages and the second part, "Own research", with a number of 123 pages. The thesis has a total number 200 pages, being illustrated in 116 figures and 33 tables. For its writing, a number of 207 bibliographic title were consulted.

The first part "**Current state of knowledge**" contains 4 chapters that briefly describe the data related to: the origin and taxonomy of buffaloes, genital morphophysiology in buffalo, parturition and puerperal period and biotechnical methods of directing reproductive function.

The second part "**Own research**" is structured in 9 chapters organized according to the drafting rules, and includes material and method, results and discussions and partial conclusions. The thesis ends with a chapter of general conclusions, bibliography and annexes.

Chapter 5 is entitled **The purpose and objectives of the thesis.** Researcher single countries followed suitability management breeding buffaloes so have applied the tests: -oestrus induction regimens using various methods and choosing the best results; -timing for FTAI with semen; - diagnosis and therapy of ovarian diseases; - the management of the puerperal period ; - diagnosis of pregnancy and its monitoring. The possibility of applying modern reproductive biotechnologies to buffaloes was also pursued . These are : - obtaining and collecting embryos in vivo; - oocyte harvesting and quality assessment; Also, another objective of the thesis was to analyze the macroscopic and microscopic characteristics of the uterus and ovaries. The research was organized in 3 different locations: a farm in Romania, one in Italy, and a research station.

Chapter 6 describes **Research on seasonal monitoring of buffalo breeding function under natural growth conditions.** From the point of view of the clinical manifestation of the estrous phase, the characterization of estrus in buffaloes was poorly expressed clinically, reduced vulvar edema, mucus less abundant and reduced in volume. Behaviorally, the buffalo in estrus had less appetite, was slightly agitated and curious. During the seasons, spontaneous estrus was diagnosed at 50.8% in spring, 30.5% in summer, 13.6% in autumn and 5.1% in winter. Frequently the right ovary has a larger size (17.8 mm) than the left one (15.0 mm). During the seasons, spontaneous estrus at BIR was diagnosed at 50.8% in spring, 30.5% in summer, 13.6% in autumn and 5.1% in winter.

Chapters 7 ***Research on the diagnosis, incidence and treatment of gynecological diseases in buffaloes.*** The frequency of placental retention seems to have an increased incidence in the cold months of the years. The differential ultrasound diagnosis between the thecal follicular cyst and the lutein cyst was easy; the lutein follicular cyst has a much thicker wall than the thecal follicular cyst, very clearly visible on ultrasound. Taking into account the seasonality of buffaloes and that the ovaries are small, but with high reactivity, grade I and II hypotrophs can be treated by specific hormone therapy associated with a balanced diet and neuroreflex therapy. The cases treated with follicular cyst, 40% of the buffaloes are in heat over 21 days, and 17 days 20% of the treated cyst LH (hCG PgF2 α).

Chapter 8 details ***Research on the use of biotechnical methods for inducing estrus in buffaloes.*** In order to be maintained a range of 13 to 14 months between calving to buffaloes, insemination has to take place in the range of 85-115 days after calving. The induction of estrus by the administration of luteolytic factor (PGF) to buffaloes has an average value of 58.3% (25% after a single administration 33.3% after the second). Induction of estrus in heifers in low season (summer) has had a successful 88.2%. The gestation rate in the summer season reached values of 76.5% following the directed breeding. In the case of therapy with P4, PGF and PMSG in the summer season, 16.6% of cases of lutein cysts were diagnosed.

Chapter 9 presents ***The challenge of estrus, ovulation and establishing the optimal time for artificial insemination in the Bradano River farm (Italy) (OvSynch + FTAI).*** The protocol used by us in this study, organizes the breeding activity on the farm, so that there is a balanced correlation between the number of animals, human resources and productivity. Economic efficiency results from maximizing the application of reproductive, biosafety and food biotechnologies. The average fertility in the BR farm in the period 2015-2017 was 73.8%, being diagnosed pregnant with a number of 456 buffaloes from 618 AI. The average fecundity at nulliparation registered the value of 78.5%, the primiparous 76.6% and the pluriparous 70.9%. The average total fertility of the warm season was 71.01%, and of the cold season 77.14%. Analyzing the effect of the season on the conception rate, it is observed that in primiparous this influence was considerably higher than in multiparous. In the case of primiparous females, during the autumn period, the conception rate was much higher, with 15% compared to the winter results.

Chapter 10 reveals ***MODAL the increase in the potential of using genetic buffalo use of biotechnology breeding.*** The total conception rate of the OvSynch protocol with unicornual FTIA and sexed semen on the Terra di Bufala farm was 45%. By bull categories, the percentages were 40% for Oro

and 50% for Aton. At birth, 9 live and viable fetuses were obtained, of which the sex ratio was 88.8% in favor of the female. We state that the goal of increasing the genetic potential of buffaloes by using artificial insemination with sexed material can become achievable.

The development of buffalo embryos evolves about 24 hours faster than bovine embryos. Therefore, the bovine embryo on the 7th day after fertilization is in the stage of expanded blastocyst development, while the same stage is reached in buffaloes on the 6th day of development. The treatment of P4 polioovulation for 11 days, PG-PMSG 2500 IU had a good reactivity obtaining on the day the flushing of four embryos and a birth rate of 25%.

According to the Romanian Embryo Transfer Association (ARET 2019 and AETE Report), the calving of the **first buffalo calf obtained by ET** was reported at the Romanian Indigenous **Buffalo**.

The synchronization of the receptors was done according to the P4-PG-PMSG-HCG scheme, the ovulatory process was 100%, by highlighting the efflorescent CL at 7 days.

The data obtained by us from the embryo-transfer experiments in buffaloes were reported to IETS - the International Embryo Transfer Society of the USA, and published in December 2019, and at the annual conference on January 17, 2020 were published the activities on ET in international level since 2018. In terms of other species - represented by BUFFALO, in Europe in 2018, only Italy (in vitro production) and **Romania** (in vivo) reported such procedures.

Due to intermittent follicular waves and with the evolution of a small number of evolutionary follicles doubled and the influence of seasonality, on the surface of the ovaries were identified a small number of antral follicles that could be punctured and aspirated. The method of harvesting by puncture and aspiration of buffalo follicles has a success rate of 45.45%, the identified follicle / oocyte ratio was 11/5. After harvesting oocytes and evaluating their quality, 42.85 % were cultivable oocytes, they have a uniform appearance with similar structure and similar degree of development, representing a population of oocytes that can successfully continue the next stages of in vitro fertilization. Compared to cattle (20-40 oocytes / ovary), the number of oocytes collected is small (9.3 oocytes / ovary), and generates a percentage of less than 50% good quality oocytes that can be cultured and used in the later stages of IVF.

Chapter 11, entitled **Morpho-functional participations of the genital tract in the buffalo**, aimed to identify the obstetrical-anatomical, histological and histopathological features of the ovaries and genital segments.

The morphological peculiarities of the uterus in the buffalo highlight a 7/4 cm cylindrical and cartilaginous cervix, a 2 cm short uterine body with a very strong and 6 cm long intercornal septum, the intercornual ligament

accompanies the glued part of the uterine horns on about half of their length, about 8 cm, uterine horns of 10 cm have a crunchy and sinuous tubular appearance with many bumps. The symmetry of the uterine horns at 2 months of gestation is still maintained, with a diameter of 3 cm, the uterine wall of 3 mm is firm and tonic, the embryonic sac with the same size as the uterus after sectioning is highlighted and the embryo has a size of 2/1 cm. On average, the buffalo ovaries recorded the following morphometric landmarks: length - 24.3 mm, width - 18.25 mm, thickness - 13.15 mm and a weight of 4.53 g. The diagnosed ovarian diseases were grade ovarian hypotrophy. I (14.51%), cyst Ovari is ni (11.29% from the 42.86% of the corpus luteum cyst, 28.57% and 28.57% lutein cyst follicular cyst) and Ovaro-bursal adhesions (1 61%).

Chapter 12 describes the ***Use of ultrasonography in monitoring buffalo reproductive function.*** Results of gestational diagnosis and identification of fetal sex (ultrasonographic sexing) are presented.

Due to the tonicity of the uterine body and the thicker uterine wall, the uterine asymmetry between the two horns appears noticeable later than in cows, in the interval of 60-70 days. The accuracy of the diagnosis of gestation in the Romanian native buffalo (BIR) by transrectal palpation in the period 50-60 days after estrus was 70.83%, and in the period 60-70 days it is 98.04%. The accumulation of fetal fluids is low until day 40 of gestation, but subsequently there is a significant increase in fetal fluid volume and fetal size, with a consistent increase in uterine size.

Both male and female genital tubercles appear on the screen as bilobed structures whose echogenicity is similar to that of bone tissue. Examination of buffaloes for fetal sex can be done between days 60 and 120 of gestation, but the ideal window of opportunity is between days 70 and 85. Even if the genital tubercle is visible from day 51, it does not reach its final position before day 58.

1. ASPECTE PRIVIND ORIGINEA ȘI TAXONOMIA BUBALINELOR ÎN ROMÂNIA

1. ASPECTS REGARDING THE ORIGIN AND TAXONOMY OF BUFFALO IN ROMANIA

1.1 Scurt istoric al evoluției bivolițelor crescute în România

Creșterea bubalinelor în țara noastră este o activitate tradițională. Bivolul este un animal ușor de întreținut, tenace, atunci când trebuie etalată forța brută, sensibil, dar nu vulnerabil, versatil, din punct de vedere etologic, cu un lapte foarte apreciat, un animal frecvent întâlnit și pe teritoriul țării noastre.

Cu privire la taxonomie, bubalinele se clasifică în: regnul *Animalia*, încrengătura *Chordata*; subîncrengătura *Vertebrata*; clasa *Mammalia*; subclasa *Theria*; infraclasa *Eutheria*; supraordinul *Ungulata*; ordinul *Artiodactyla*; subordinul *Ruminantia*; familia *Bovidae*; subfamilia *Bovine*; genurile *Bos* și *Bubalus*; specii *bubalis*, *mindorensis*, *depressicornis*, *nanus*..

După Georgescu, (1988), (citată de Runceanu, 2016) familia *Bovidae* cuprinde genul *Bubalus* (bivolul Asiatic), genul *Syncerus* (bivolul African), genul *Anoa* și genul *Ovibos*.

Din punct de vedere filogenetic, bubalinele s-au desprins din diferite forme de bovine în perioada terțiarului superior. În trecut, arealul de creștere al bivoliilor sălbatice era în sudul continentului European. Aria de răspândire a bivoliului sălbatic se restrânge spre India și insulele din Sud-Estul continentului datorită modificării regimului climatic spre cel arid, fiind întâlnit în zilele noastre în India, Indonezia, Filipine (Velea ș.a. 1981).

Bivolul românesc, omologat în anul 1987, sub denumirea de “Rasa de bubaline românească”, își are originea în bivolul sălbatic Indian (*Bubalus arni*), respectiv în cel domestic - bivolul comun (*Bubalus microceros*). Sub raport genetic și ecologic aparține tipului de râu, respectiv bivoliului riveran comun (mediteranean) (Georgescu, 1982; Velea, 1983).

S-au emis două ipoteze privind perioada de pătrundere a bivoliilor în țară noastră. Prima ipoteză susține că bivoliile au pătruns pe teritoriul țării în secolul al V-lea era noastră, prin Peninsula Balcanică și s-au răspândit în Câmpia Română, Transilvania și în Dobrogea, fiind aduși de către popoarele migratoare asiatice. A doua ipoteză susținută de Moldoveanu, (1962), citată de Velea, (1983), arată că bivoliile au pătruns în țara noastră în secolul al XI-XII-lea era noastră. Sunt unanimitate admise cele două căi de pătrundere a bivoliilor în țara noastră: prin vest sau din Ungaria, aduși de către huni și răspândiți de avari și prin sud, din Turcia, Grecia, Bulgaria, aduși de către turci.

Cu privire la primele date scrise despre creșterea bubalinelor în România, acestea au fost în județul Brașov, localitatea Porumbacul de Jos, date care se refereau la bivoli din ținutul Făgărașului. Aceștia aparțin unei unități taxonomice formată prin selecție naturală, îndeosebi sub acțiunea factorilor de mediu. Această unitate taxonomică de bivoli s-a dezvoltat în regiunile băltoase și mai sărace, cu vegetație mai puțin abundentă și în care se cerea o muncă fizică mai grea. Bubalinele din țara noastră, se remarcă printr-o rusticitate și adaptabilitate pronunțată, sporind șansele creșterii lor cu precădere în sectorul particular. Acestea au evoluat în mod natural, sub incidența factorilor artificiali (Pucleanu, 2000).

În trecut, bivolul din România era răspândit în trei centre: Transilvania, Câmpia Dunării și Dobrogea. La nivelul anului 1988, 97% din efectiv se întâlnește în Transilvania, pe văile râurilor Olt, Someș, Mureș și Criș, restul de efectiv fiind răspândit în Muntenia, Oltenia, Dobrogea și mai puțin în Moldova (Georgescu, 1988).

Cel mai mare efectiv de bubaline din țara noastră s-a înregistrat în anul 1980 (228 mii animale) având o creștere de 56,31% comparativ cu anul de referință 1920, când numărul de bubaline din România a fost de 145856 (tabel 1.1). După anii 1980, efectivul de bubaline din țară s-a diminuat continuu, ca urmare a perioadelor socio-economice derulate, astfel încât, în anul 2019 au fost înregistrate doar 19000 animale, procentul de scădere față de anul de referință 1920 fiind de 86,97%.

Deși efectivul de bubaline de la noi din țară a scăzut foarte mult, România ocupă locul doi după Italia (402 mii animale la nivelul anului 2019 - FAO, 2021) din cele șase țări crescătoare de bubaline din Europa (Italia, România, Bulgaria, Germania, Ungaria și Grecia, FAO, 2021). O poziție mai slabă se regăsește în cea ce privește producția de lapte (1200 l/lactație), unde România ocupă locul patru.

Bud I.(1984) arată că inițiativa de formare a primului nucleu de selecție din țara noastră are loc în perioada anilor 1870-1879, la Șercaia, unde se semnalează rezultate apreciabile în direcția obținerii reproducătorilor masculi de valoare, necesari ameliorării populației de bubaline din zonă, prin utilizarea încrucișării cu rasa Murrah, astfel s-au obținut producții de până la 1500 l lapte/bivoliță (Coroian Aurelia, 2009).

Prin cercetările efectuate asupra structurii genetice a bubalinelor autohtone din zona Făgărașului, ajunge la concluzia că acestea dețin 50% sânge din rasa românească, 37.5% sânge din rasa Murrah și 12.5% sânge din rasa bulgărească (Elisei, 1995).

Tabel 1.1

Dinamica efectivelor de bivoli în România între anii 1920 - 2019 (după FAO, 2021)

Table 1.1

Dynamics of buffalo herds in Romania between 1920 and 2019 (after FAO, 2021)

Anul de referință	Numărul de animale	Diferențe față de anul de referință % (+/-)
1920	145856	-
1946	200000	+37,12
1966	154113	+5,66
1970	175240	+20,14
1980	228000	+56,31
2005	45028	-56,1
2012	22400	-84,64
2013	19401	-86,69
2014	19426	-86,71
2018	18900	-87,04
2019	19000	-86,97

1.2. Însușirile morfologice ale bubalinelor crescute în România

În cadrul rasei românești de bubaline se întâlnesc două tipuri originare, ecologice și morfologice.

Bivolul de Transilvania, este mai înalt (talie 132 cm la bivolițe), cu lungimea trunchiului relativ mică (139 cm), toracele mai puțin descins (54%), membrele mai lungi și mai groase (21 cm), făptura mai apropiată de a animalului de tracțiune, față de tipul din Câmpia Dunării, care este mai puțin înalt (129 cm), cu formatul corporal dreptunghiular, (110%), mai adânc (55%), cu ugerul mai dezvoltat, membre mai subțiri și făptura mai uscățivă (Coroian Aurelia, 2009).

Bubalinele românești, se caracterizează prin dezvoltare corporală relativ mică (greutatea la bivolițe 460 kg și talie 132 cm), format corporal scurt (107%), făptura masivă (154%), cadru corporal acceptabil (1.85 m²), dimorfism sexual puțin pronunțat și conformație nearmonioasă.

Capul este mare, cu direcție orizontală, cu fruntea scurtă și bombată, fața este lungă și îngustă, coarnele groase, semilunare, orientate înapoi, cu lungimea de 40-60 cm.

Gâtul este scurt, 59 larg și adânc, cu linia superioară lăsată în zona spinării, ascendentă spre crupă și teșită spre baza cozii. Crupa are un aspect unghiulos, este scurtă, largă la șolduri, dar îngustă la ischii.

Coadă este prinsă jos și înfundată, iar toracele descins (53 - 54%), abdomenul este foarte mare și ugerul de mărime mijlocie, globulos și conic, aproape simetric și cu mameloane subțiri.

Membrele sunt groase și cu ongoane mari și depărtate. Pielea este groasă, și pigmentată, părul este gros și lung, rar pe regiunile superioare ale trunchiului și mai des pe frunte, ganașe, coaste și membre (Coroian Aurelia, 2009).

Culoarea este neagră cu nuanțe cenușii sau brun roșcată, pîntenogeli și smocul cozii alb, dar rareori cu bălțături și albinisme (Moldoveanu ș.a, 1973; Velea ș.a., 1981).

Referitor la însușirile funcționale, rasa de bubaline românească prezintă o constituție robustă, spre grosolană, în special pentru tipul de Transilvania și la masculi. Prezintă un temperament liniștit, caracter blând dacă este crescut în efective mici, dar irascibil și încăpățânat când este crescut în efective mari. Prezintă stare de sănătate bună, dar este tardiv, atinge maturitatea corporală după vârsta de 6 ani, intrând la reproducție după vârsta de 27 - 28 de luni. În anumite condiții de creștere și alimentație vârsta de intrare la reproducție este de 20 – 22 luni (Ciornei S., 2020). Rasa românească de bubaline are aptitudini multiple, pentru lapte, carne și muncă. Prezintă longevitate ridicată, până la vârsta de 20 de ani (Georgescu Gh., 1988).

Producția de lapte prezintă o medie de 1100 kg, cu o durată a lactației de 8 - 9 luni, cu variații în funcție de calitatea materialului genetic și condițiile de creștere. Cu privire la economicitatea în producția de lapte aceasta este puțin satisfăcătoare, cu excepția randamentului laptelui de bivoliță în unt, care este foarte ridicat. Consumul de hrană este mare (cca. 2 U.N./kg lapte de bivoliță) și indicele de lapte este redus (Georgescu.,1988).

2. MORFOLOGIA GENITALĂ LA BIVOLIȚĂ

2. GENITAL MORPHOLOGY IN BUFFALO COW

2.1. Morfologia aparatului genital la bivoliță

Anatomia normală a sistemului genital feminin și masculin la bubaline este importantă pentru a înțelege, procesele clinice fiziologice care trebuie întreprinse și, de asemenea, pentru a înțelege diferitele structuri (Tonizza de Carvalho ș.a., 2014; Coțofan, 1985).

Tractul reproductiv feminin cuprinde organele genitale tubulare și organele generative, iar sistemul reproductiv masculin este format din testicule, structurile tubulare și glandele sexuale accesorii. Bovinele și bubalinele par să fie similare în anatomia tractului reproductiv feminin și masculin, dar unele diferențe, cum ar fi colul uterin mai îngust, dimensiunile ovariene și testiculare mai mici, glandele sexuale masculine accesorii mai mici la bivol fac ca bubalinele să fie ușor diferite de bovine (Dyce ș.a. 1996).

Importanța anatomiei sistemului reproductiv feminin, cunoașterea particularităților anatomice femele este importantă, printre altele, pentru diagnosticul malfuncțiilor ovariene și uterine, pentru utilizarea tehnicilor de reproducere, cum ar fi diagnosticarea gestației, inseminarea artificială, superovulația, prelevarea ovulelor și transferul de embrioni.

Aparatul genital femel include ovarele, care produc gameți și hormoni; oviductele, care sunt extensii ale uterului și oferă funcții de transport pentru ovocite, spermă și secreții; uterul, care este locul dezvoltării embrionare și fetale; vaginul, care este canalul pentru trecerea copulării și a fătului, și organele genitale externe (fig. 1.1) (Banks, 1992, Dyce 1996).

Organele genitale interne sunt fixate de ligamentul larg, cuprinzând mezovarul care susține ovarul, mezosalpinxul care susține oviductele și mezometrul, care susține uterul (Hafez, 2004).

Potrivit lui Runceanu L. și colab. (2016) ligamentul larg este singurul atașament al uterului cu corpul animalului. În general, ligamentele largi constau din pliuri serosale duble care conțin între ele mușchi, țesut conjunctiv, nervi și vase de sânge. Brar și colab. (2008), prin studierea ligamentelor largi la bivoli a observat că la vițelele abia fătate fibroblastele și fibrele musculare erau încă în organizare, bivolițele adulte negestante aveau o musculatură bine dezvoltată în ligamente largi, iar la bivolițele gestante ligamentul larg avea fascicule musculare relativ mai mari, cu apariții sincițiale frecvente ale fibrelor musculare.

Bazinul la bivoliță

După descrierile lui Hadi (1965), și Chantaraprateep (1984) , pelvisul bubalin este diferit de pelvisul bovin. Intrarea pelvină la bivolițe este mai circulară și oblică comparativ cu apertura craniană eliptică la vaci. Cei două oase pubiene sunt fuzionate complet și bazinul are o lungime variabilă. Oasele celor două ischiumuri la bivoli formează cu axul longitudinal un unghi de 70 de grade (fig. 1.2) comparativ cu 50 de grade la vaci. În plan superior sacrum și ilium formează un plafon înalt, neregulat, convex cu aspect fin, ascuțit și fragil. Tuberculii ischiatici sunt mari, bine dezvoltati și trasi în lateral, au un aspect sub formă de „y”. Distanța dintre acetabulum și tuberculul coxal (unghiul extern al paletelor iliace), și între tuberculul ischiatic și acetabulum este aproape egală (cu o diferență de 4 - 5 cm) la bovine, în timp ce la bivoli diferența este dublă, de 8 - 10 cm. La bivoli a 5-a vertebră sacrală este articulată mobil de cea de-a 4-a vertebră sacrală, în timp ce la vacă a 4-a și a 5-a vertebră sacrală sunt o sinostoză. În mod global, aceste variații au ca rezultat diametre mai mari și o deschidere a bazinului mai generoasă, fiind în favoarea parturițiilor eutocice.

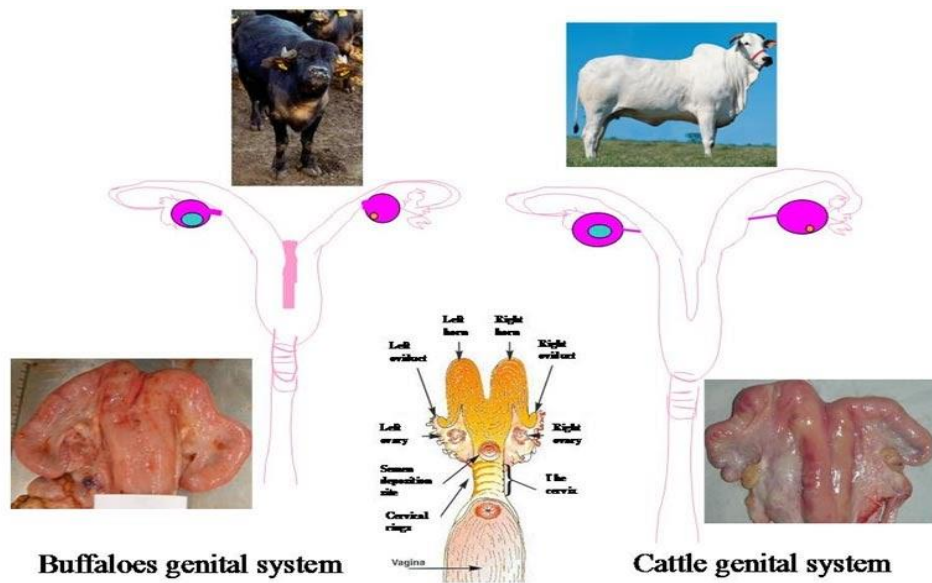


Fig. 1.1 Diagrama aparatelor genitale la bivoliță (stânga) și la vacă (dreapta),
(Purohit, 2014)

Fig.1.1 Schematic diagram of the buffalo's (left) and cattle (right) female genital systems

Segmentele genitale externe și interne

Bubalinele și bovinele sunt considerate specii similare, dar există unele diferențe între segmentele genitale externe și interne. Organele genitale tubulare ale bivoliței sunt, în general, mai musculare și mai rigide, iar coarnele uterine mai sinuoase. Cervixul este mai îngust și puțin mai scurt.

Ovarele, deși sunt considerate similare cu cele ale bovinelor, sunt, în general, de dimensiuni mai mici. Numărul de foliculi primordiali în ovarele bivolițelor este comparativ mai mic în comparație cu cele de la bovine, iar diametrul foliculului este de asemenea mai mic la bivol. Corpul luteal (CL) se dezvoltă mai puțin pe suprafața ovariană și este mai încorporat în stroma ovariană. Oviductele bivolului sunt mai groase și sunt mai adânc înglobate în ligamentele largi decât în vacă (Danell, 1987, Aboul-Fadle, ș.a. 1974).

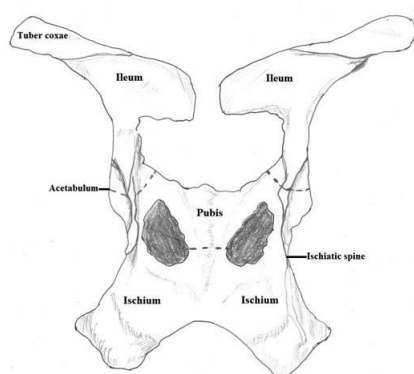


Fig. 1.2 Diagrama pelvisului la bivoliță
Fig.1.2 The diagram of bubaline pelvis
(Purohit G.N. 2014)



Fig. 1.3 Structurile ovariene (foliculi, corp galben) de pe ovarul de bivoliță. (Purohit G.N. 2014)
Fig. 1.3 The ovarian structures (follicles, corpus luteum) on the buffalo ovary. (Photo courtesy Prof G.N. Purohit)

Potrivit lui Dyce (1996) ovarele sunt solide, ovoide și prezintă o suprafață neuniformă datorită proiecției foliculilor și corpurilor luteali. Porțiunea craniană a fiecărui ovar este unită de ligamentul larg al uterului prin mezoovar. Alți autori afirmă că ovarele bivolițelor sunt mai alungite și mai ferm fixate de mezovariu în comparație cu ovarele bovinelor.

Potrivit lui Carvalho (2006), această legătură rigidă prezentată de bivoli poate împiedica mișcarea ovarelor în timpul ovulației, deoarece mezovariul este responsabil pentru mișcările gonadei feminine. Mobilitatea mai mică a ovarului ar putea afecta absorbția ovocitelor de către fimbriile oviductului și astfel poate influența rata de recuperare a acestor gameți.

Potrivit unor autori, la bivoliile adulți, greutatea ovariană variază de la 0,5 la 10,9 g, iar junincile prezintă o greutate medie de 3,4 la 3,6 g (Sane ș.a., 1964 și Danell, 1987).

Oviductele sunt structuri sinuoase care se extind bilateral de la ovar la coarnele uterine. Grosimea musculaturii din oviduct crește de la ovar la capătul uterin al oviductului (Hafez, 2004). La bivolițele adulte, lungimea oviductului variază de la 12,5 la 42,8 cm (Vale, 1982).

Referitor la lungimea corpului uterin Vittoria (1997) afirmă că există o variație de la 0,8 la 1,5 cm la bivoliul mediteranean. Cervixul la bivoli este relativ

mai scurt și mai îngust decât la vacă și cu un număr de inele cervicale cuprinse între 1 și 5 (Hadi și Sane 1965, Carvalho 2007).

Potrivit lui Sane și colab. (1964), se explică dilatarea incompletă a orificiului cervical în estru atunci când sunt inele mai puține în comparație cu bovinele. Acest lucru explică, parțial, dilatarea necorespunzătoare a colului uterin la fătare, fiind o cauză rară de distocie la bivoli comparativ cu bovinele (Purohit ș.a. 2011).

Modelul de anastomoză vasculară observat la bivoli diferă de cel al vacii. Ramura uterină a arterei vaginale emite o ramură către corpul uterului. Artera ovariană emite o ramură arterei uterine și arterele de pe ambele părți ale uterului au fost interconectate cu arcuri anastomozante proeminente la nivelul corpului uterului (Kunchithapatham 1994).

2.2. Fiziologia genitală la bivoliță

Fiziologia reproductivă a bivolilor este similară bovinelor, dar există diferențe subtile în unele aspecte. Bivoțele prezintă o influență marcată a sezonului asupra exprimării estului, concepției și a fătării (Barile, 2005; Marai și Habeeb, 2010). S-a menționat că momentul reproducerii la speciile de bivoli este foarte variabil.

În țările subtropicale și temperate, departe de ecuator, cum ar fi India, Pakistan și Italia, reproducerea este dependentă sezonier, reproducerea fiind favorizată în timpul scăderii lungimii zilei, în timp ce în țările tropicale din apropierea ecuatorului reproducerea este mai mare în funcție de disponibilitatea furajelor (Zicarelli, 1993; Campanile, 2010).

Studiile au demonstrat scăderea sezonieră a activității sexuale în multe țări (Shafie 1993). Prin urmare, sezonul de reproducere pentru bivoli în țările în care creșterea bivolilor este importantă pare să se extindă din septembrie până în martie (Di Francesco, 2010). În comparație cu bovinele, bivoli prezintă pubertate întârziată (Perera, 2011), exprimare slabă a estrului într-o proporție mai mare de femele (Presicce, 2007), estrus postpartum întârziat și intervale prelungite de fătare (El-Wishy, 2007).

Embrionii de bivol au mai multe picături de lipide și intră în uter la 96 - 108 h după ovulație (Anwar și ullah, 1998) și se dezvoltă rapid în blastocisti eclozați până în ziua 7 a ovulației. Alungirea embrionară se presupune că apare similar bovinelor (Neglia ș.a., 2009).

Se consideră că reapariția întârziată a estrului postpartum se datorează efectelor sezoniere legate de exploatare și inclusiv de nutriție. Gestația gemelară este rară la bivoli, iar raportul de sex al nașterilor masculine este de 1,15: 1 (Hosseini-Zadeh ș.a., 2012).

2.2.1 Ovogeneza

Ovulul și gametul femel, provine din celulele germinale primordiale care se dezvoltă în faza embrionară timpurie. Aceste celule germinale primordiale migrează din sacul germinativ spre creasta genitală aproximativ până în ziua 35 de gestație la bovine și bubaline.

Aceste creste genitale se diferențiază în gonade, iar celulele germinale primordiale se dezvoltă în oogonie. Ovogonia se înmulțește prin mitoză după diferențierea sexuală și intră în profaza primei diviziuni meiotice numite și ovocite primare (ovogeneza). Ovogeneza este finalizată înainte sau imediat după fătare la animalele domestice. În acest stadiu ovulele sunt înconjurate de un singur strat de celule epiteliale numite foliculi.

Astfel, la fătare, vițelele de bivoli au zestrea lor completă de ovocite în foliculi primordiali care scad progresiv în timpul vieții animalului.

Ovarele de bivoli au doar 10.000 - 20.000 de foliculi primordiali (Danell 1987) comparativ cu peste 100.000 la bovine. Studiile au arătat că rotația foliculară la bivoli este similară cu bovinele (Presicce, 2007).

După pubertate, ovocitele își reiau dezvoltarea trecând prin metafaza, anafaza și telofaza primei diviziuni meiotice și se dezvoltă în ovocite secundare sau suferă atrezie. În această etapă a diviziunii meiotice, numărul cromozomial este redus la jumătate și primul globul polar este eliminat.

După ovulație ovocitul secundar suferă o altă diviziune meiotică, iar cel de-al doilea globul polar este eliminat înainte de fertilizarea cu spermatozoidul.

Ovulația marchează începutul fazei luteale și este punctul culminant al unui proces numit ovogeneza, în care celulele germinale sunt maturate. Celulele germinale sunt prezente în foliculii care conțin receptori pentru FSH, care la rândul lor stimulează creșterea și maturarea foliculilor receptivi.

2.2.2 Foliculogeneza

Dezvoltarea foliculilor pre-antrali

După sfârșitul ovogenezei, ovarul este format din foliculi primordiali cuprinși într-un cadru de țesut interstițial căptușit cu epiteliu germinativ. Ovocitele formate în perioada fetală și neonatală sunt singura sursă de ovocite disponibile pe întreaga viață sexuală (Awasthi, 2013). Rezerva foliculilor primordiali este limitată, fie suferă atrezie, fie unii foliculi primordiali încep să crească și ulterior să intre în atrezie. Odată ce foliculii primordiali încep să crească, celulele granuloase proliferază pentru a forma structuri multilamelare cunoscute sub numele de foliculi preantrali. Acești foliculi preantrali cresc odată cu formarea ulterioară a unui spațiu umplut cu lichid (antrum) și a unui strat celular bine diferențiat (Awasthi ș.a. 2007).

Creșterea foliculului antral (valuri de creștere foliculară)

Etapele ulterioare ale dezvoltării foliculului antral la bivoli sunt caracterizate prin două sau trei valuri de creștere foliculară în timpul fiecărui ciclu estru. Valurile de creștere foliculară sunt observate în diverse perioade precum perioada prepubertală, puberală, anestru, gestație și perioada postpartum. Fiecare val de creștere a foliculilor se caracterizează prin recrutarea unui grup de foliculi care continuă să crească până la aproximativ 6 - 8 mm în diametru. Din acest grup de foliculi în creștere, un singur folicul este selectat pentru a continua să crească și devine foliculul dominant, iar foliculul dominant al celui de-al doilea sau al treilea val este în cele din urmă responsabil pentru exprimarea estrului și va ovula (Awasthi ș.a., 2008).

2.2.3 Ciclu sexual la bivoliță

După ce a ajuns la pubertate, bivoliței i se inițiază un model ritmic al activității sexuale cunoscut sub numele de ciclu sexual. Semnul cel mai clar definibil al acestui tipar ritmic este estru, o perioadă de receptivitate sexuală, care se repetă la fiecare 21 de zile (interval 19 - 23 zile). În linii mari, ciclul sexual poate fi împărțit în patru faze și anume: proestru (3 zile), estru (24 ore), metestru (3 - 4 zile) și diestru (12 - 15 zile). Fazele proestru și estru sunt grupate sub faza foliculară, în timp ce metestrul și diestrul sunt clasificate în faza luteală a ciclului sexual (Perera, 2011; Singh ș.a., 2000).

Deși este o femelă poliestrică, ciclul sexual are un accentuat caracter sezonier, mai ales ca mod de manifestare: în zonele de șes și de deal, ciclul sexual este mai intens în aprilie și septembrie, pe când în zonele de munte, intensitatea este mai mare în lunile iunie, iulie (Runceanu ș.a., 2007; Groza ș.a., 2012; Groza și Muntean, 2000).

Sezonalitatea este marcată de temperatura ambiantă, fotoperioada și specificul nutriției. Efectul fotoperioadei este asemănător cu cel de la vaci. În perioada de vară, temperatura mediului ambiant și fotoperioada au un nivel maxim, (crește titrul prolactinei), precum și progesteronul în plasmă (Hafez, 2000). Temperatura ridicată contribuie deasemenea și la depresia sezonieră la mascul.

Sunt citate numeroase observații care atestă sezonalitatea ciclicității sexuale începând cu libidoul, fecundația, gestația și alte manifestări ale ciclogramei reproducției la bivoliță (tabelul 2.1).

Durata unui ciclu sexual este în general, în medie, de 21 zile; în India, unde se înregistrează o temperatură ridicată și umiditate scăzută, durata ciclului prezintă variații de la 19,4 zile la 21,4 zile; în Egipt se înregistrează o durată de 21,4 zile; 21 zile în Bulgaria; 24 zile în China, 28 - 30 zile în Malaysia.

La bivoli de râu, estrul durează în medie 24h (10 - 48h) în comparație cu o perioadă de timp mai scurtă la bivoli de mlaștină ($19,9 \pm 4h$). Femela

acceptă masculul pentru împerechere în această perioadă (Perera, 2011). În timpul estrusului, un ovul se maturizează în foliculul ovarian sub influența LH și ovulează la aproximativ 11 ore după dispariția semnelor de estru la bivoli de râu și 13,9 ore la bivoli de mlaștină (Moioli, 1998). Dacă bivolița s-a împerecheat sau este inseminată în timpul estrusului, ovulul este fertilizat și ajunge în uter pentru dezvoltare ulterioară. Dacă nu se produce fecundația și nidația, atunci estrul reapare la un interval de aproximativ 21 de zile. De obicei, hemoragia metestrală nu apare la bivolițe. În condiții fiziologice normale, activitatea ciclică rămâne absentă înainte de apariția pubertății, în timpul gestației și pentru o perioadă scurtă postpartum.

Tabelul 2.1

Caracteristicile reproducerii la bovine și bubaline (Hafez, 2001)

Table 2.1

Reproductive characteristics in cattle and buffaloes (Hafez, 2001)

Parametrii	Bovine (media intervalului)	Bubaline (media intervalului)
Sezon sexual	Poliestru	Poliestru
Vârsta la pubertate	15 (10 - 24)	21 (15 - 36)
Ciclul estral		
Lungime (zile)	21 (14 - 29)	21 (18 - 22)
Estru (ore)	18 (12 - 30)	21 (17 - 24)
Ovulație		
Tip	Spontan	Spontan
Durata de la început (ore)	30 (18 - 48)	32 (18 - 45)
Numărul de ovule eliberate	1	1
Durata de viață a CL (zile)	16	16
Fertilitatea ovulului (ore)	(20 -24)	-
Intrarea ovulului în uter (ore după ovulație)	90 (64 - 96)	-
Durata gestației (zile)	280 (278 - 293)	315 (305 - 330)
Vârsta primei fătări (luni)	30 (24 - 36)	42 (36 - 56)
Interval post partum		
Involuția uterină (zile)	45 (32 - 50)	35 (16 - 60)
Prima ovulație (zile)	30 (10 - 110)	75 (35 - 180)
Interval între fătări (luni)	13 (12 - 14)	18 (15 -21)

CL la bivoli este mai mic în comparație cu bovinele și o altă trăsătură caracteristică a creșterii CL la bivoli este că lipsește o coroană și este de obicei încorporată în stroma ovariană. Aceste caracteristici împiedică identificarea

exactă a structurilor ovariene prin palparea rectală la bivoli în comparație cu bovinele (Verma-Kumar ș.a., 2004).

2.2.4 Endocrinologia reproducerii

Ciclul estral la bivolițe este reglat de axa hipotalamo-hipofizo-gonadică formată din hipotalamus, hipofiză și ovare. La această axă se mai adaugă și endometrul uterin. Hipotalamusul produce GnRH ca răspuns la semnalele neuro-endocrine și la steroizii circulanți sangvini. GnRH-ul are o acțiune trofică asupra hipofizei stimulând producția de gonadotropine; cele două gonadotropine esențiale pentru funcția de reproducție sunt FSH-ul și LH-ul.

Acești hormoni stimulează foliculii ovarieni să crească, induc deci valul folicular și ovulația. Mai mult, după ovulație foliculul se transformă pentru a forma corpul luteal (CL) sub influența LH-ului. CL este responsabil pentru producția de progesteron la animalele ciclice și la cele gestante.

Hormonii primari produși de ovar sunt estrogenul (E) și progesteronul (P4), pe lângă alți hormoni locali ca inhibina, prostaglandine, relaxina. Acești hormoni sunt transportați de fluxul sanguin către țesuturile țintă prin globulinele care leagă steroizii sexuali.

Estrogenul, produs de foliculul în creștere, are un feedback pozitiv pentru stimularea eliberării pulsatile de LH (Singh ș.a., 2000). De asemenea, influențează comportamentul estrului la bivolițe. În plus, estrogenii inițiază contracțiile uterine necesare transportului spermei prin tractusul reproductiv feminin, crește fluxul de sânge către organele genitale și producția de mucus de către glandele din cervix și vagin.

Progesteronul produs de CL previne ciclicitatea acționând asupra hipofizei anterioare printr-un model de feedback negativ, reducând astfel eliberarea de FSH și LH. Progesteronul pregătește uterul pentru primirea unui ovul fertilizat și nidația ulterioară. De asemenea, ajută la menținerea gestației prin suprimarea contracțiilor uterine și promovarea dezvoltării mucoasei uterine. Un alt hormon care are un rol important în funcția de reproducere la femele este prostaglandina F2α (PGF2α).

3. PARTURIȚIA ȘI PERIOADA PUERPERALĂ LA BIVOLIȚĂ

3. PARTURITION AND THE PUERPERAL PERIOD IN THE BUFFALO COW

3.1. Parturiția la bivoliță

Procesul parturiției este declanșat de făt și implică o cascadă complexă de evenimente endocrine, neuronale și mecanice care favorizează contracțiile miometrice, dilatarea colului uterin, expulzarea fătului și a învelitorilor fetale (Senger, 2012). Fătarea marchează întreruperea gestației, moment în care fătul este capabil de supraviețuire independentă în afara uterului (Morrow, 1986).

3.1.1 Semne prodromale

Semnele comportamentale de apropiere a fătării la bivoli sunt similare cu cele de la bovine. Cel mai adesea, semnele includ modificări ale ligamentelor pelvine, mărirea și edemul vulvei și dezvoltarea ugerului. Dintre acestea, cel mai evident și mai sigur indiciu al apropierii parturiției este edemul mamar. Modificările morfologice sunt utile ca ghid și oferă o idee aproximativă a timpului așteptat, dar nu permit o predicție exactă a momentului (Benesch ș.a., 2001). Cu una până la două zile înainte de fătare, unele bivolițe au o diaree apoasă pasageră ce dispare spontan la 24 de ore după fătare, acest simptom pare a fi de origine psihogenă (Purohit, 2014).

Edemul mamar cu dilatarea mameloanelor devine proeminent cu aproximativ 1,8 zile înainte de fătare. Mameloanele devin globuloase, iar venele mamare superficiale par foarte ectaziate (Singh ș.a., 1994).

Cu doar 2 până la 3 zile înainte, se produce o relaxare marcantă a ligamentelor pelvine, cu excepția ligamentului sacrosciatic care devine flasc cu aproximativ 12 până la 24 de ore prepartum. Coada are un aspect ridicat, iar bazinul pare ca fiind adâncit și basculat producând o depresiune la baza cozii (Singh ș.a., 1966).

Vulva devine progresiv edemațiată și congestionată în ultimele 3 până la 4 zile și extrem de flască cu 24 până la 36 de ore înainte de începerea parturiției, iar pliurile transversale dispar complet. Lichefierea dopului de mucus cervical se produce în ultimele 3 până la 4 zile (Ahmad ș.a., 2009).

Pe măsură ce travaliul începe, bivolițele devin nervoase, agitate ieșind din zona de confort, prezintă un apetit redus pentru furaje și apă. La fiecare contracție apărută își ridică coada, arcuiesc spatele, adoptă decubitul și se ridică des. În decubit, se întind complet pe o parte, iar membrele posterioare sunt ținute în hiperextensie (Roy și Luktuke, 1962, Vulpe, 2006).

3.1.2. Etapele parturii

Similar altor rumegătoare, și la bubaline, parturiția este împărțită în trei etape diferite. Prima etapă se caracterizează prin dilatarea cervixului, a doua etapă prin expulzarea fătului și a treia etapă prin expulzarea membranelor fetale (fig.3.1). Durata acestor etape și întreaga durată a parturii este variabilă, precum s-a raportat în diferite studii.

Dilatarea și deschiderea cervixului complet durează aproximativ 0,5 până la 2 ore. Stadiul este mai lung la primipare decât la pluripare. Cu aproximativ 12 până la 24 de ore înainte de parturiție, contracțiile uterine cresc atât în frecvență cât și în amplitudine, provocând animalului un anumit disconfort abdominal. După aproximativ 40 de minute de la debutul travaliului și 10 minute după terminarea primei etape, apare alantocorionul în canalul vaginal și se rupe după un interval mediu de 2 minute, (Jainudeen și Hafez 2000).

După o perioadă de repaos de aproximativ 13 minute, la nivelul vulvei se observă elemente fetale înconjurate de amnios de culoare alb sidefiu. Contracțiile și mișcările abdominale puternice duc la ruperea sacului amniotic și la avansarea fătului, de obicei, în așezare longitudinală și prezentare anterioară. Trecerea capului și membrelor fetale necesită eforturi expulsive maxime, iar restul fătului este expulzat cu ușurință. Această etapă a travaliului durează aproximativ 9 până la 44 de minute, dar se poate extinde până la 6 ore, în special în primipare.

După parturiție, presa abdominală încetează și anexele fetale sunt expulzate în decurs de aproximativ 4,3 până la 9,1 ore.

Un studiu privind momentul din zi al parturii a arătat că aproximativ 46,7%, 30% și 23,3% dintre bivolițe au fătat dimineața, după-amiaza și, respectiv, noaptea (Roy și Luktuke, 1962). Cu toate acestea, un alt studiu prezintă că majoritatea fătărilor, respectiv 80%, se produc în timpul nopții (Dodamani ș.a., 2010).

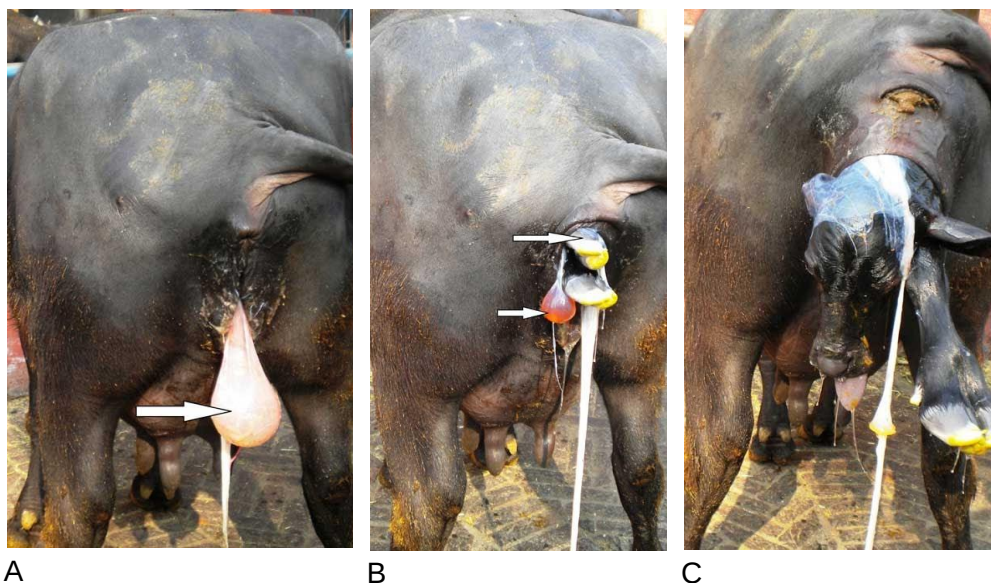


Fig. 3.1 Etapele parturii la bivoliță. Alantocorionul la nivelul vulvei (A), Amniosul și membrele fetale (B), Capul fetal coplet expulzat (C) (Das ș.a., 2014)

Fig. 3.1 Sequential events during parturition in buffalo. Arrow indicates allantochorion hanging from the vulva (A), Second water bag/amnion and fetal limbs appearing at the vulva (B) Fetal head completely out (C), (Das ș.a., 2014)

3.2. Puerperium la bivoliță

Puerperium este perioada de după parturiție, în timpul căreia aparatul genital revine la starea sa antegestațională în ceea ce privește dimensiunea, localizarea și funcția, astfel încât femela să poată fi gestantă din nou. Puerperium începe imediat după fătare și durează până la restabilirea funcției de reproducere (Senger, 2012).

3.2.1. Involuția uterină

La bivoliță, regresia uterină este considerată completă atunci când uterul revine la dimensiunea normală non-gestantă și la locația sa în bazin (Raizada ș.a., 1982) sau când ambele coarne uterine au dimensiuni aproximativ egale la bifurcația externă și au tonus normal (El-Fouly ș.a., 1976).

Ultrasonografic, involuția uterină este considerată completă atunci când atât coarnele, cât și cervixul sunt vizualizate ca structuri uniforme, izoecogene fără conținut, pe imagistica secțiunii transversale. Există o mare variație a datelor privind timpul de involuție la bivolițe, cu valori medii cuprinse între 20,1 și 41,6 zile.

În primele 24 până la 48 de ore după fătare, uterul este ca un sac mare și flasc, în cavitatea abdominală. În ziua a 7-a postpartum (PP), uterul rămâne cranian și ventral până la marginea pelviană. Rata de involuție este rapidă până la 14 zile și se observă o scădere marcată a dimensiunii între 7 și 15 zile după parturiție. Până în ziua 15 postpartum, cornul gestant poate fi localizat la marginea bazinului, în timp ce congenerul său se află în cavitatea pelviană. Rata de involuție scade treptat, este lentă dar progresivă până la 21 - 25 de zile PP (Roy și Luktuke, 1962) Uterul complet revine în cavitatea pelviană până în ziua 25 și cornul gestant își recapătă tonusul și consistența până la 35 de zile PP (Chauhan ș.a., 1977). Pe baza criteriilor ultrasonografice, involuția uterină a fost finalizată până la 25 de zile postpartum la bivoli Murrah bulgari. Examenul transrectal a arătat că 65%, 82% și 100% dintre bivoli au avut uterul în cavitatea pelviană în zilele 22, 28 și respectiv 34.

Studiile histologice au arătat că epiteliul uterin normal a fost restabilit la 30 de zile pe cornul negestant și 45 de zile pe cornul gestant. Aproximativ 500 ml de loșii sunt evacuate în prima zi și cantitatea lor scade treptat, interval mediu de eliminare a lor este de 6 zile (0 - 34 zile) (Agrawal ș.a., 1978).

3.2.2. Puerperiumul clinic

Puerperium clinic în general durează trei săptămâni de la parturiție. Această perioadă se caracterizează prin procese de involuție ale uterului, greutatea lui ajungând la 500 – 600 g. În această perioadă se instalează echilibrul între procesele degenerative și cele regenerative sub influența hormonilor estrogenilor. Loșiile scad în cantitate și devin incolore, uneori ușor gălbui, cu caracter mucos, urmând să dispară.

Refacerea epiteliului uterin și ale glandelor uterine se produce pe seama stromei uterine. În această perioadă are loc o puternică secreție endocrină, sunt activați receptorii uterini, crește capacitatea de autoapărare locală, crește activitatea ovarelor, ca răspuns la acțiunea hormonilor periferici și centrali (Groza ș.a., 2019).

3.3. Afecțiunile perioadei puerperale la bivoliță

Un tract genital sănătos este o condiție esențială pentru ca o bivoliță să își mențină capacitatea de reproducere și inclusiv de producere a laptelui. Orice afecțiune a tractului genital tubular ar împiedica sau ar scădea trecerea gametilor și embrionilor și stabilirea lor în uter, rezultând o fertilitate mai scăzută. Afecțiunile genitale par a fi un motiv important pentru sacrificarea bivolițelor.

3.3.1. Afecțiuni ovariene

Disfuncția ovariană este frecventă în perioada puerperală (McLeod și Williams, 1991) și este o entitate clinică importantă, deoarece afectează capacitatea unui animal de a se reproduce și de a produce lapte. Ovariele și structurile ovariene la bivoliță sunt sensibil mai mici comparativ cu vacile, mai ales în hipofuncția ovariană sezonieră, iar patologii ovariene limitează valoarea de reproducere a acestei specii (Purohit, 2014).

Hipotrofii ovariene

Sunt afecțiuni ovariene foarte frecvente la bivolițe, acestea sunt diagnosticate pe tot parcursul anului, dar mai ales în sezonul rece, în condiții de furajare deficitară, condiții de inactivitate sezonieră de primavară-vară (Tomai 2015, Groza ș.a., 2009).

Tulburările trofice ovariene sunt întâlnite frecvent la rumegatoare după pubertate, atât la primipare cât și la multipare. Ovarul este un organ cu sensibilitate ridicată, având funcție dublă, endocrină și germinativă. Tulburările trofice sunt consecința diferitelor carențe alimentare, traumatisme, infecții, tulburări endocrine, insuficiență secretorie gonadotropă adenohipofizară (FSH și LH) sau tratamente hormonale efectuate greșit (Runceanu, 2001; Runceanu, 2007; Boitor, citat de Groza ș.a., 2009).

Sterilitatea în cadrul tulburărilor trofice se datorează unor modificări în procese metabolice. Modificarea acestor activități celulare ovariene are ca rezultat reducerea volumului celulelor active, modificarea structurilor deja formate sau a receptorilor hormoni (Cotea, 1982, Runceanu, 2001).

Stabilirea diagnosticului depinde de gradul hipotrofiei și de modificările utero-ovariene.

Hipotrofia de gradul I se manifestă prin lipsa estrului sau estru fără manifestări evidente, asociată cu modificări discrete ale tractusului genital. La examenul transrectal, se observă scăderea ușoară a ovarelor în volum, consistența este apropiată de normal, și identificarea unor formațiuni funcționale ovariene cu evoluție incompletă (foliculi) (Drugociu, 2015).

Hipotrofia de gradul II este o afecțiune ovariană mai severă caracterizată prin anafrodizie. Examenul intern evidențiază ovare puțin reduse în volum, consistența crescută și absența formațiunilor funcționale (foliculi sau corpi luteali), boala mai poartă denumirea de "ovare netede".

Hipotrofia de gradul III denumită și atrofia ovariană se caracterizată prin anafrodizie și modificări ovariene. Prin palpare internă se constată micșorarea în volum a ovarelor (între 0,5 - 1 cm) având consistență crescută (dure), lipsec formațiunile funcționale de pe acesta (ovare netede). Hipoplazia endometrială apare la nivelul uterului (Drugociu, 2009, Hansen, 2009).

Odată cu îmbunătățirea furajării pe termen lung, are loc remedierea afecțiunii în cazul hipotrofiilor de gradul I și II (Tomai, 2012, Ardelean, 2002).

Protocolul terapeutic în cazul hipotrofiilor se bazează pe terapia neuro-reflexă și hormonală:

- electroterapie, irigații vaginale cu soluții fiziologice călduțe, pensulații cervicale cu iod glicerinat, masaje utero-ovariene repetate;
- tratamente intravaginale cu spirale impregnate cu progesterone (PRID, CIDRE);
- administrarea de Gn-RH (după 10 zile post-partum);
- administrarea de hormoni gonadotropi serici: (ex. Folligon 1000 UI), tratamentul se efectuează 2 - 3 zile și se repetă la 10 - 14 zile.

Corpul luteal persistent

Corpul luteal persistent (CLP) este o glandă cu secreție internă, cu suport endocrin. Este întâlnită la vacă și bivoliță și reprezintă un factor de infertilitate. Corpul luteal devine patologic dacă nu involuează în 20 - 25 zile, el își păstrează mărimea, consistența și forma pe ovar, fiind însoțit de sindromul de anafrodizie (Șonea, 2003, Hansen ș.a. 2009, Bogdan și Groza 2009).

CLP se dezvoltă la fel ca la vacă, din corpul luteal gestativ (70%), s-au din cel ciclic (30%) (Runceanu ș.a., 2016). Această afecțiune este influențată de diverși factori, amintim disfuncțiile endocrine și factorii favorizanți. Disfuncțiile endocrine sunt considerate cauza principală a instalării corpului luteal patologic, (Tomai, 2015).

În evoluția CLP există o condiționare reciprocă între factori ovarieni și uterini, de aceea tratamentul complet are în vedere inducerea luteolizei și tratarea afecțiunilor inflamatorii uterine.

Diverși autori au evidențiat rolul deosebit pe care îl au unele afecțiuni uterine în apariția corpului luteal persistent. Aceștia afirmă că uterul intervine prin mai mulți factori în relația sa cu ovarele, ca de exemplu: -efectul luteolitic uterin prin PGF2 α ; -sinteza steroizilor la nivelul endometrului; -retrorelația uter-ovar în metabolismul estrogenilor (Boitor 1999, Cernescu 2005, Runceanu ș.s., 2007, Bogdan și Groza 2009).

Cauzele predispozante se referă la: -producții mari de lapte, o hiposecreție (rar la bivolițele multipare); -hipersecreția de LH și LTH; -lipsa de mișcare și microclimat necorespunzător; - carențele vitamino-minerale și în oligominerale.

Corpul luteal gestativ poate deveni persistent în caz de moarte embrionară, retenție placentară și alte endometrite parazitare; chiar o secreție catarală uterină poate fi incriminată în apariția CLP.

Principală manifestare clinică este anafrodizia. Tratamentul este bazat pe luteolitice (PGF2 α).

Boala chistică ovariană

Chiștii ovarieni sunt formațiuni patologice cu substrat hormonal, se caracterizează prin prezența pe ovar a unei formațiuni pline cu un lichid, cu un

diametru de peste 20 - 25 mm și care persistă mai mult de 10 zile pe ovar (Hansen 2000). Ciclicitatea sexuală este modificată în sensul scurtării sau prelungirii perioadei interestriale (Drugociu 2015).

Formațiunile chistice pot fi prezente pe unul sau pe ambele ovare, atât pe suprafața acestora cât și în stromă, ca număr chiștii pot fi multipli sau solitari.

Frecvența apariției bolii chistice ovariene se apreciază că variază între 6 - 19% la vacă (Hafez, 2010), iar la bivoliță de 2,7% (Ahmad și Khan, 1993).

Din punct de vedere fiziopatologic bola chistică ovariană are ca factor determinant insuficiența peak-ului preovulator de LH. Există și o predispoziție genetic de transmiterea ereditară a bolii chistice ovariene de la vacă la vișele (Bogdan și Groza 2009, Runcenu ș.a., 2007).

Ca factori favorizanți sunt incriminați: carențele alimentare, dar în principal în beta-caroten și consumul crescut de fitoestrogeni și toxine; producția mare de lapte; balanța energetic negativă din perioada puerperiumului; suprasolicitarea organismului, interferențe în secreția de LH; afecțiunile puerperale (endometrite, retenția placentară, nevroze puerperale).

Din punct de vedere al formațiunilor suport pe care se formează chistul aceștia pot fi chiști foliculari, chiști luteinici, chiști ai corpului luteal.

Chistul folicular se formează pe un folicul ovarian și sunt formați dintr-o cavitate plină cu lichid și mărginită de un perete chistic conjunctivo-hialin. Clinic, examenul transrectal al ovarelor poate face diferența între chistul folicular (capsula este mai subțire) și cel luteinic (capsulă groasă). Comportamental, femela manifestă estru frecvent, la intervale din ce în ce mai scurte, până la nimfomanie.

Chiștii ovarieni luteinici se formează pe foliculi care au suferit luteinizarea tecilor interne și a granuloasei. El este mărginit de o capsulă fibroasă ce conține un lichid de consistență mai crescută. Mărimea variază de la 2 cm până la 4 - 5 cm. Capsula are la interior un strat gros de celule (teaca internă și granuloasa luteinizată). Frecvent chiștii luteinici sunt septați și formați din celule luteale și țesut conjunctiv fibros (Drugociu 2001).

La examenul trans rectal se constată o îngroșare neuniformă a peretelui chistului, iar femela respectivă este anestrică.

Corpui luteali chistici apar pe corpui luteali care suferă procese de blocare a involuției. Comportamental, bivolița se află în sindromul de anafrodizie. Diagnosticul se stabilește prin examen ginecologic transrectal, când se constată ovare cu formațiuni chistizate dure, elastice ca și consistență.

Cele mai frecvente metode de tratament se referă la:

- tratamentul cu GnRH, 60 - 80% dintre bivolițele tratate intră în estru între 18 - 23 zile (Hansen Ch. 2009);

- tratamentul cu gonadotropine corionice (HCG) duce la rezultate satisfăcătoare, dar sunt mai scumpe. Gonadotropina corionică (HCG) are

acțiune principală cu cea a hormonului LH, producând o acțiune luteotropă directă asupra chistului ovarian pe care îl luteinizează.

- tratamentul combinat de gonadotropină corionică (HCG) și Progesteron s-a dovedit foarte eficace în terapia chiștilor luteinici și foliculari.

Indiferent de tipul chistului, după aproximativ 10 - 12 zile de la tratamentul cu GnRH sau cu HCG, se recomandă administrarea unei doze de PGF2α.

3.3.2 Afecțiuni uterine

Infecțiile uterine au fost raportate ca fiind cauza principală a infertilității la bivolițe (Agarwal, ș.a., 2005). Un uter sănătos este cea mai vitală componentă pentru implantarea și dezvoltarea embrionului și ulterior pentru dezvoltarea fătului. Prezența bacteriilor în uter provoacă inflamații și leziuni în endometru și întârzie involuția uterină, poate influențează supraviețuirea gameților și a embrionilor (Sheldon ș.a., 2006).

Infecțiile uterine care implică diferite straturi ale uterului au fost clasificate ca: metrite, endometrite, perimetrite și parametrite. Incidența infecțiilor uterine la bivolițe depinde de mulți factori printre care și igiena la fătare, distocia, retenția placentară și tulburările metabolice (Mittal ș.a., 2009). Incidența distociei la bivoli este mai mică de 10% (Rabbani ș.a., 2010) în timp ce retenția placentară variază între 2,7 și 9,6% (Illeva ș.a., 2007, Tomar ș.a., 2002).

Aceleași definiții pentru infecția uterină sunt utilizate la bovine și la bivoli și, prin urmare, metritele puerperale sunt considerate afecțiuni inflamatorii acute ale uterului cu sau fără simptomatologie generală dar cu scurgeri de material purulent în primele două săptămâni postpartum (Tandle ș.a., 2014).

Etiologia inflamațiilor uterului este foarte complexă, sunt responsabili factori favorizanți și factori determinanți. Factorii favorizanți includ tulburările hormonale, carențele alimentare, traumatisme consecutiv distociilor, condițiile defavorizante ale mediului (zooigiena necorespunzătoare), retențiile placentare, tulburări de dinamică uterină.

Factorii determinanți sunt reprezentați de flora bacteriană polimorfă. Se evidențiază o varietate de germeni predominând streptococi, stafilococi, E. coli, micetii, Leptospira, Proteus, Colibacilii (20 - 30% din asocierile bacteriene diagnosticate), (Cernescu H., 2004).

Metrita

Metrita puerperală este o boală sistemică acută toxică datorată unei infecții bacteriene a uterului, ce se instalează, de obicei, în decurs de 10 zile de la parturiție. Bivolițele afectate prezintă scurgeri vaginale fetide, de culoare roșie, maro, cu aspect apos, producție redusă de lapte, matitate a mucoaselor, anorexie și deshidratare. Diagnosticul clinic se poate baza pe aceste semne

clinice și analize de laborator. Femelele afectate pot fi predispuse la apariția tulburărilor metabolice și pot dezvolta frecvent toxiemie (Azawi ș.a., 2007).

Metrita este, în cele mai multe cazuri, consecutivă retenției anexelor fetale și a distociilor (Konigsson ș.a., 2001). Prevalența metritei variază de la 2,7% la 12,5% (Azawi ș.a., 2008). Diagnosticul de metrita cronică se pune într-un procent mai mare și majoritatea sunt cazuri severe.

La palparea trans-rectală, uterul este mărit în volum cu peretele îngroșat aflat în subinvoluție. Un astfel de uter anormal de mare cu scurgeri purulente indică semne de metrită, deși semnele generale pot lipsi. Evaluarea ultrasonografică a uterului postpartum și a dimensiunilor acestuia poate ajuta la monitorizarea involuției uterine și a prezenței unor lichide excesive în uter, în timp ce un examen vaginoscopic este util în vizualizarea prezenței puroiului sau mucusului în vagin (Mittal ș.a., 2009).

Clinic, femela prezintă eforturi frecvente de expulzare, mai mult sau mai puțin violente, intermitente, cu eliminarea unor secreții murdare, sero-sanguinolente, uneori purulente cu resturi organice, intens ihoase. Explorația trans-rectală este dureroasă, uterul mărit, sensibil, neinvolutat, dur și greu de demarcat (Groza ș.a., 2019).

Natura acută a metritei postpartum și efectele sale dăunătoare asupra producției de lapte necesită o terapie promptă. Majoritatea antibioticelor administrate pe cale intrauterină sunt ineficiente (primele 10 - 12 zile postpartum) din cauza prezenței unui volum mare de resturi de lichide și țesuturi. Prin urmare, se sugerează utilizarea sistemică (injectabilă) a antibioticelor precum oxitetraciclină, gentamicină, cefapirină sau ceftiofur (Tandle și Purohit, 2014). În cazurile mai severe cu toxiemie, se administrează soluții perfuzabile cu săruri de calciu, tonice hepatice și antihistaminice (Abdullah și Tiwari, 2007).

Endometrita

Endometrita este cea mai frecventă afecțiune ginecologică la bivolițe, mai ales în perioada postpartum. Incidența endometritei la bivolițe este mai mică de 20% (Ali ș.a., 2009).

Ca și considerații generale, endometrita la bubaline reprezintă o inflamație a mucoasei uterine și se caracterizează prin prelungirea scurgerilor vaginale peste 21 de zile. Aspectul conținutului inflamator uterin, care se elimină în exterior poate avea diverse caracteristici de consistență, aspect și culoare, de la mucos, seros, cataral până la muco-purulent. Frecvent starea generală a bivoliței nu este afectată.

Endometrita clinică (purulentă puerperală) și piometru sunt considerate entități strâns legate, care apar la 3 - 4 săptămâni după fătare. Scurgerile purulente sau mucopurulente sunt caracteristice în endometrita clinică, în timp

ce puroiul reținut în uter și cu corp luteal persistent este caracteristic în piometrului.

Alături de scurgeri purulente, urât mirositoare cu resturi de placenta, la examenul ginecologic transrectal se observă sensibilitate locală, subinvoluție uterină. Bivolitele prezintă eforturi de expulzare, micțiunea și defecarea sunt dureroase. Semnele locale sunt însoțite de modificări ale marilor funcții ca tahicardie, tahipnee și uneori sindrom febril.

Tratamentul tuturor endometritelor puerperale urmărește: eliminarea conținutului inflamator, aseptizarea cavității uterine, luteoliză și troficizarea endometrului. Se fac sifonaje uterine de evacuare, cu suspensii de antibiotice și sulfamide sau soluții ce stimulează activitatea tisulară. General, se recomandă antibiotice sau chimioterapie, alături de susținerea marilor funcții prin tonice cardiovasculare, soluții glucozate, soluții calcice (Tandle ș.a., 2014).

Endometrita catarală cronică

Este o afecțiune cu un caracter trenant și foarte puțin evident. Simptomatologia locală este mascată de secrețiile fiziologice estrale și nu poate fi descoperită decât în momentul estrului (Groza ș.a., 2006). Secrețiile vaginale au o culoare alburie, apar în perioada estrală și se repetă câteva cicluri sexuale la rând.

Ciclicitatea sexuală este păstrată, cu ritmicitatea normală la primele cicluri, când se observă doar modificări în secrețiile estrale și devine neregulată la următoarele cicluri, dacă nu se intervine cu tratament adecvat (Drugociu, 2000).

Tratamentul medicamentos constă în administrarea intrauterină a unor soluții de antibiotice sau sulfamide. Se utilizează în general o cantitate de 50 - 100 ml soluție la o administrare, în funcție de mărimea uterului. Tratamentul se repetă la 24 de ore, efectuând înaintea fiecărui tratament masajul uterin pentru vidarea conținutului inflamator.

Endometrita subclinică este diagnosticată pe baza citologiei uterine și prin identificarea PMN în frotiu, asociată cu apariția scurgerilor uterine la 8 până la 15 săptămâni după fătare (Pramod ș.a., 2002).

Utilizarea altor metode de diagnostic precum Metricheck pentru detectarea eficientă a endometritei la vaci poate fi utilizată și la bivolite.

Perimetrita și Parametrita

Aceste afecțiuni sunt rareori observate la bivolite și se dezvoltă secundar piometrului, endometritei purulente clinice și metritei. Se caracterizează prin inflamația de diferite grade a seroasei uterine și a seroaselor cavității pelvine, cu aspect invadant la organele și segmentele pelvine învecinate. Modalitatea de diseminare a infecției poate fi ascendentă de la vagin și descendentă din zona pelvină.

În urma evoluției unui astfel de episod patologic, se organizează și apar diferite aderențe între uter și ligamentele largi și alte organe pelvine și abdominale. Diagnosticul este oarecum dificil prin examinarea trans-rectală a organelor genitale, senzația este de bloc inflamator cu un grad ridicat de sensibilitate (Azawi și Ali, 2011).

Incidența parametritei și perimetritei la bivolițe este cuprinsă între 0,7% și 1,5%. Prognosticul este de obicei grav și animalele afectate pot deveni sterile (Bhattacharya ș.a., 1954). Terapia acestor afecțiuni nu este de obicei posibilă.

Piometru și mucometru la bivolițe

Aceste afecțiuni se caracterizează prin acumularea de puroi sau fluid în cavitatea uterină, persistența corpului luteal și suspendarea ciclului sexual. Incidența piometrului la bivoli variază de la 0,25 la 9,25% (Azawi și Ali 2011, Agarwal 1978). Incidența mucometrului este cuprins între 1,78 și 2% (Al-Dahash și David 1977).

Palparea trans-rectală a uterului și inspecția secrețiilor purulente sunt metode comune utilizate pentru diagnosticul piometrului. Palparea trans-rectală relevă un uter flasc, coarne uterine atone și mărite simetric în volum.

Pentru diagnosticul diferențial față de gestație, în piometru și mucometru peretele uterin este mai gros și nu se simte alunecarea alantocorionului și nici carunculei (Agarwal ș.a., 2004).

Mucometru (hidrometru) poate fi diagnosticat în mod similar, pe baza acumulării de lichid în ambele coarne uterine, prezența unui perete uterin subțire și aspectul ultrasonografic al fluidului fără cotiledone sau structuri fetale. Aceste elemente fac diferențierea de piometru.

Tratamentul are succes prin administrarea de prostaglandine în doză unică s-au repetată la 7 zile. În piometru, se recomandă spălarea uterină (sifonaj) cu 1 L de soluție salină normală timp de 3 - 7 zile pentru evacuarea uterului de resturi de țesut și material purulent. Bivolițele cu mucometru se recuperează după cu o singură administrare de PG (Tandle ș.a., 2014).

Prolapsul uterin

Prolapsul uterului este o complicație obișnuită a celei de-a treia etape a travaliului la rumegatoare, de fapt un accident puerperal. La bivolițe, prolapsul este o inversare completă a cornului uterin gestant (Ardelean, 2002).

Etiologie. Predispoziția prolapsului uterin este dată de mai mulți factori: vârsta femelelor și rezistența scăzută la eforturile parturii, alimentația deficitară, parturiția rapidă.

Simptomatologia apare imediat după parturiție. Bivolița adoptă o poziție cifoasă și face eforturi de expulzare, ulterior, se observă apariția uterului între labiile vulvare, uneori acoperit de învelitori (Mircu, 2008).

Prognosticul depinde de rapiditatea stabilirii diagnosticului, de prezența leziunilor și gravitatea lor și de complicații.

Tratamentul urmărește repunerea uterului prolabat în poziția anatomică normală. Operația se realizează în mai mulți timpi operatori: anestezia epidurală cu 6 - 8 ml de procaină soluție 2% ; toaleta mecanică a formațiunii prolabate; dezancorarea placentei; spălare uterului cu soluții antiseptice; sutura deșirărilor uterine, excizarea porțiunilor necrozate; aplicarea de unguente cu antibiotice; repunerea propriu-zisă în poziție anatomică a uterului, de la baza acestuia spre vârf.

Se recomandă inocularea intra-murală de ocitocină, în 5 - 10 puncte în doză de 80 - 100 UI, pentru grăbirea reducerii volumului uterului. Sutura labiilor vulvare este necesară întrucât recidiva poate să apară (Șonea, 2003).

Pentru prevenirea complicațiilor se recomandă un tratament local și general. Local se pot introduce soluții cu antibiotice și antiseptice sau bujii ce conțin antibiotice (Drugociu, 2009)

Retenția placentară

Este o afecțiune care constă în rămânerea anexelor fetale în cavitatea uterină, imediat după expulzarea produsului de concepție la aproximativ 12h (Runceanu ș.a., 2007).

Deficiențele privind furajarea bivolitelor în timpul gestației, în special în partea a doua a gestației, reduc rezistența organismului și determină hipotonia sau atonia uterină ce determină instalarea retenției anexelor fetale (Groza ș.a., 2019).

De obicei simptomele generale lipsesc sau sunt manifestate discret în primele ore post-partum sau până la apariția unor complicații. La inspecție constatăm prezența anexelor fetale în cavitatea pelvină, la nivelul comisurilor vulvare sau atârând în proporții diferite.

Tratamentul retenției anexelor fetale are în vedere trei obiective: extragerea învelitorilor fetale, combaterea infecției și stimularea involuției uterine. Extragerea manuală se realizează la bivoliță în primele 12 ore după parturiție (extragerea timpurie), s-au după 24 de ore (extragerea tardivă), (Runceanu, 2001). Combaterea infecției la bivoliță, se efectuează prin introducerea intrauterină de antibiotice cu spectru larg de acțiune sub formă de bujiuri spumante sau suspensii uleioase.

Stimularea involuției uterine se realizează prin masaje uterine transrectale, administrarea de ocitocice în doză de 50 - 80 U.I., PGF2α, plimbări zilnice. (Drugociu, 2009).

3.4. Refacerea axului hipotalamo-hipofizo-ovarian în perioada puerperală la bivoliță

Intervalul mediu pentru involuția uterină completă la bivoliță postpartum variază foarte mult, între 19 și 52 de zile. Reluarea întârziată a activității ovariene postpartum la bivoliță este o cauză majoră a pierderii economice pentru crescătorii de bivoli din multe țări (El-Wishy, 2007). În India, Pakistan și Egipt, doar 34 - 49% dintre animale au reluat estul în primele 90 de zile după fătare, în timp ce 31 - 40% au rămas în anestrus mai mult de 150 de zile. Intervalele de fătare la bivolițe sunt în general considerate ca fiind de două ori în trei ani.

Creșterea FSH-ului și creșterea foliculilor este evidentă la bivoli în perioada postpartum timpurie, cu toate acestea, secreția de LH continuă să fie scăzută în acest moment. Bivolițele situate la latitudini geografice mai mari, care fată în perioada de creștere a zilei, nu pot relua ciclul sexual până la următoarea perioadă de descreștere a lungimei zilei. Factorii care influențează reluarea ciclului postpartum la bivoli au fost evaluați recent și se afirmă că: alăptarea, paritatea, nutriția și managementul au fost considerați ca factorii primari care afectează reluarea ciclului postpartum în afară de gestionarea adăpostului și microclimatul (Sharma, 2010).

3.4.1 Dinamica foliculară în perioada postpartum

Reluarea ciclicității la bivolițe postpartum este atribuită unei creșteri plasmatice a FSH-ului, ducând la recrutarea de noi foliculi și la stabilirea dominanței unuia dintre ei. Disfuncția hipofizară este un factor important responsabil pentru inactivitatea ovariană postpartum la bivolițe. În ciuda capacității atribuite GnRH-ului exogen de a elibera LH și FSH, caracteristica unui val preovulator este restabilită în ziua 20 postpartum. În plus, alți factori sunt responsabili pentru reluarea ciclicității la bivoli, cum ar fi suplimentarea cu antioxidanți dietetici, raportul lumina-întuneric, condițiile climatice reci sau calde (Ramadan ș.a., 2001).

Reluarea postpartum a activității ovariene și a ciclului estral la bivoli este condiționată de sezon și de maturitatea reproductivă a animalelor (Campo ș.a., 2002).

În cadrul unui studiu pe bivolițe mediteraniene din Italia, s-a raportat că după observarea ecografică ovariană în primele 60 de zile postpartum, prima ovulație se produce într-un procent de 40 - 80 %. (Presicce ș.a., 2005). Autorii au raportat că media de la fătare până la primul interval de ovulație a fost de $25,5 \pm 6,9$ zile la primipare și de $15,5 \pm 1,3$ zile la pluripare. În mod similar, primul interval mediu de ovulație postpartum a fost de $23,1 \pm 1,5$ zile și 14 din 20 de animale au ovulat la 28 de zile postpartum la bivolițele Mehsana (Sharma și Luktuke, 1985). În schimb, prima ovulație postpartum a fost raportată mai

târziu ($52,67 \pm 8,02$ zile) la 3 din 12 bivoli Murrah în cursul a două luni postpartum (Malik ș.a., 2010).

Revenirea timpurie la dezvoltarea foliculară activă și apariția primei ovulații postpartum a demonstrat capacitatea ovarului de bivol de a relua activitatea ovariană devreme după fătare. Acest lucru sugerează că reacția ovariană nu poate fi motivul principal pentru durata variabilă a perioadei de anestru postpartum observată frecvent la bivoli (Awasthi ș.a., 2007). Intervalul mediu de la apariția valurilor până la prima ovulație postpartum a fost raportat a fi de $14,0 \pm 1,6$ zile la bivoli Murrah (Malik ș.a., 2005).

După prima ovulație postpartum, un nou val de dezvoltare foliculară care duce la ovulație a fost raportat la bivoli în perioada postpartum timpurie. Majoritatea raselor prezintă un ciclu estral scurt, cu o scurtă fază luteală, la scurt timp după fătare (Murrah, Mehsana, Mediteraneană) (Presicce ș.a., 2005; Malik ș.a., 2005; Awasthi ș.a., 2008).

Estru scurt se caracterizează printr-o evoluție foliculară care culminează cu ovulația. Au fost raportate diferențe nesemnificative în mărimea foliculului ovulator între fazele estrale scurte și cele normale. (Gupta ș.a., 2001).

4. METODE BIOTEHNICE DE DIRIJARE A ESTRULUI LA BIVOLIȚE

4. BIOTECHNICAL METHODS FOR DIRECTING ESTRUL IN BUFFALO COWS

4.1. Biotehnica însămânțărilor artificiale la bivoliță

Cunoaștem faptul că însămânțarea artificială (IA) reprezintă o metodă biotehnică actuală și de perspectivă în creșterea animalelor, metodă prin care se produce intensificarea reproducției și a producției animalelor. Însămânțarea artificială trebuie înțeleasă în contextul evoluției continue a smart tehnologiilor ale științelor biologice.

Actual, în cadrul exploziei tehnico-științifice, biologia a făcut progrese remarcabile, ce a permis descifrarea la nivel foarte amănunțit a diferitelor aspecte de fiziologie și patologie animală. În acest sens, în ultimul timp, s-au înregistrat importante descoperiri în domeniul biotehnologiilor de reproducție fiind promovate noi metode moderne de IA (Runceanu ș.a., 2008).

Specialistii consideră că însămânțarea artificială este un mijloc esențial al ameliorării animalelor, punând accent pe genetica superioară a unui mascul selectat. În cadrul acestei metode din domeniul biotehnologiei, rolul principal în grăbirea ritmului și a gradului de ameliorare îl are, fără echivoc, masculul, prin multitudinile posibilități de transmitere, a unor caractere morfoproductive dorite și eficiente economic.

Ca și definiție, prin însămânțare artificială se urmărește recoltarea și introducerea materialului seminal, utilizând un instrumentar adecvat particularităților anatomo-fiziologice în căile genitale femele, fără să existe actul de copulare între mascul și femelă (Bogdan ș.a., 2015).

Din perspectiva zootehniei, însămânțarea artificială, reprezintă o metodă biotehnică modernă de supraveghere și dirijare a funcției de reproducție, în scopul optimizării procesului de înmulțire și ameliorare a populațiilor de animale, la nivelul capacității lor potențiale reproductive.

Din secolul al IV-lea, crescătorii și specialiștii au început să fie preocupați de posibilitatea însămânțării artificiale. În 1899, Ivanoff din Rusia a cercetat IA la păsări, cai, bovine și oi. Se pare că a fost primul care a însemnat cu succes bovinele în mod artificial. În anul 1936 Danemarca a fost prima țară care a înființat o asociație de cooperare pentru IA la vacă. E.J. Perry din New Jersey a vizitat-o, și cunoscând facilitățile legate de IA din Danemarca a înființat prima cooperativă de IA din Statele Unite în anul 1938 la New Jersey State College of Agriculture (Webb, 2008).

Depășirea stadiului experimental s-a produs abia în a II-a jumătate a secolului al XIX-lea, când s-au dezvoltat metode concrete și reproductibile de conservare a materialului seminal, în special prin congelare în azot lichid, pe baza cărora însămânțarea artificială și-a găsit o mare aplicare în țările cu zootehnie dezvoltată, devenind o condiție tehnică esențială în procesul de ameliorare și metodă sigură de eradicare a unor boli veneriene.

Inseminarea artificială este un instrument important pentru îmbunătățirea progresului genetic la efectivele de bubaline de lapte. Această biotehnologie a fost utilizată la bivoli în timpul sezonului de reproducere (diminuarea duratei zilei) cu detectarea estrului (Ohashi, 1994) obținând un număr satisfăcător de gestații ($P / IA \geq 40\%$). Cu toate acestea, rezultate pot fi influențate din cauza manifestării discrete a estrului la bivolițe (Baruselli ș.a., 1997; Zicarelli ș.a., 1997; Porto-Filho ș.a., 2014).

La nivel internațional I.A. la bivolițe se realizează în centre / stațiuni de cercetare și ferme de mare producție, în rest reproducerea se realizează prin monte dirijate.

4.1.1 Metode de însămânțare artificială la bivolițe

Tehnica inseminării unei bivolițe este o abilitate care necesită cunoștințe, experiență și răbdare adecvată. Tehnicile de însămânțare artificială necorespunzătoare pot anula toate celelalte eforturi pentru a obține concepția. Materialul seminal trebuie depus în tractul genital al bivoliței în cea mai bună loc și în cel mai bun moment pentru a obține rate acceptabile de concepție.

Inseminarea trebuie să se facă, ținând cont de particularitățile fiziologice ale locului de depunere a materialului seminal prin montă, cel puțin la nivelul segmentului genital femel unde este depusă fiziologic, s-au mai aproape de locul fecundației (Drugociu, 2001, Șonea, ș.a., 2003).

În vederea obținerii de procente cât mai mari de fecunditate, trebuie să se respecte câteva principii la inocularea spermei:

- IA trebuie să se facă la același nivel al tractusului genital femel ca monta, sau la un segment superior acestuia.
- Depistarea debutului fazei estrale și aprecierea momentului optim de inseminare.
- Se va insemina doar material seminal testat și verificat sub aspect calitativ.
- Tehnica de IA trebuie să țină seama întotdeauna de particularitățile anatomo-fiziologice ale aparatului genital.
- Manopera folosită pentru IA să fie ușor de aplicat, iar inseminarea să se facă de către persoane cu expertiză.
- IA trebuie să se facă ținând cont de durata estrului și de momentul ovulației, pentru a putea avea loc fecundația.

- Înainte, în timpul și după IA trebuie evitată expunerea femelei la stres (Runceanu ș.a., 2008).

Însămânțarea artificială implică la modul general următoarele etape:

- a) recoltarea spermei de la masculul selectat;
- b) diluția ei astfel încât să se obțină un preparat capabil să fie folosit pentru înseminarea unui număr mare de femele;
- c) conservarea preparatului obținut;
- d) detectarea momentului ovulației;
- e) însămânțarea artificială propriu-zisă.

Depistarea bivolitelor în călduri. În vederea obținerii unei bune fecundități este necesară descoperirea la timp a femelelor în estru. În condițiile exploatarei intensive, depistarea căldurilor este greu de realizat. Căldurile sunt apreciate de către operator prin modificările segmentelor genitale: vulva, vestibulul vaginal și vaginul. Cu câteva ore înainte de apariția căldurilor, încep să fie congestionate și edemațiate, labiile vulvare se îngroașă și dispar pliurile. Caracteristic este că femelele acceptă saltul partenerelor, iar la nivelul comisurii vulvare inferioare se scurge un mucus filant dar puțin abundent. În primele ore ale estrului mucusul este mai abundent, filant, transparent lipindu-se de regiunea vulvară, pe crupă și pe baza cozii (Amann, 1989). Odată cu timpul consistența mucusului crește, ajungând ca la mijlocul căldurilor să prezinte elasticitatea maximă. La examinarea transrectală se constată prezența erectilității coarnelor uterine. Foliculul ovarian proemină la suprafața ovarului, dar nu se simte fluctuația specifică acestuia (Runceanu ș.a., 2007).

La mijlocul perioadei estrale, foliculul ovarian este mai mare cu pereții subțiri și cu lichid sub tensiune, simțindu-se la palpare și o ușoară fluctuație. În acest moment se poate face însămânțarea (Groza, 2007).

Spre sfârșitul căldurilor, foliculul de Graaf ajunge la un diametru de aproximativ 15 - 20 mm (la vacă) cu pereții subțiri și cu fluctuație evidentă. Nu este recomandată palparea ovarelor în această perioadă, deoarece foliculul se poate ovula mecanic.

Depistarea femelelor în călduri trebuie făcută de trei ori în decursul unei zile: dimineața la prânz și seara, s-au consularea programelor de gestionare a estrului în fermă.

Momentul optim al înseminării la taurine

Coroborând toate semnele căldurilor, (comportamentale și morfofuncționale de manifestare a acestora), pentru a avea un indice maxim de fecunditate (tabelul 4.1), IA trebuie făcută atunci când:

1. femela acceptă salturile celorlalte femele;
2. buzele vulvei sunt edemațiate și cu prezența unui mucus filant, transparent;
3. coarnele uterine au un tonus ridicat;

4. pe ovar foliculul are fluctuață evidentă și este sub tensiune.

Tabelul 4.1

Influența momentului IA sau a montei asupra fecundității la vaci
(după Trimberger și Favis 1999)

Table 4.1

The Influence of the IA or mounting on fertility in cows
(after Trimberger and Favis 1999)

Momentul inseminării	Fecunditatea la prima inseminare %
- la apariția căldurilor	44,0
- la mijlocul căldurilor	82,0
- la sfârșitul căldurilor	75,0
- la 6 ore după terminarea căldurilor	63,0
- la 12 ore după terminarea căldurilor	32,0
- la 24 ore după terminarea căldurilor	12,0

În ultima perioadă de timp, în zootehnia modernă se utilizează o singură înșămânțare (o paietă) pe ciclu estral, și rar se fac două inseminări cu același taur, femelele inseminate dimineața vor fi reinseminate la 12 h.

Primele metode de IA prevedeau depunerea materialului seminal în vagin, așa cum se întâmplă prin montă. Aceste metode nus-au dovedit a fi satisfăcătoare. O metodă care a câștigat popularitate a fost metoda colposcopică „cu speculum”. Această metodă este ușor de învățat, dar este necesar măsuri de igienă strictă a echipamentului, ceea ce face ca inseminarea să fie mai puțin practică comparativ cu cea bimanuală. Această metodă tactil-recto-cervicală a devenit și este cea mai utilizată metodă IA în prezent (Webb., 2008).

Instrumentarul pentru inseminare este în funcție de metoda care se aplică și de forma de tipul materialului seminal.

Pentru IA cu speculumul vaginal, este necesar: speculum, sursa de lumină, stand de contenție. Speculum vaginal trebuie să fie obligatoriu sterilizat, încălzit și lubrefiat.

Materialul seminal uzual folosit la înșămânțări este conservat în paiete, iar instrumentarul folosit este pistolul.

Decongelarea spermei se realizează urmărind anumite etape cheie:

1. extragerea paietelor, din containerul cu azot, trebuie făcută foarte rapid. Pentru decongelare se utilizează un termos la temperatura de 37° C.
2. decongelarea să se realizeze cât mai repede;
3. între momentul decongelării și cel al inseminării, temperatura materialului seminal reanimat trebuie să fie constantă. Cu cât intervalul de timp

între decongelare și inseminare este mai scurt, cu atât fecunditatea este mai bună.

4. instrumentarul de inseminare să aibă cel puțin aceeași temperatură ca și paleta sau chiar ceva mai ridicată;

După decongelarea și reanimarea materialului seminal, paleta se introduce în pistolul de inseminare, iar operatorul este pregătit pentru inseminare.

Metoda tactil-recto-cervicală

Este metoda cea mai utilizată și astăzi. Operatorul după ce se videază cu mâna ampulă rectală de fecale, se examinează sumar statusul uterului și al ovarelor. Apoi se îndepărtează partea inferioară a labiilor vulvare pentru a se examina mucoasa vestibulului, cu cealaltă mână se introduce pistolul ascendent de jos în sus, dirijându-l spre plafonul vestibulo-vaginal, până se ajunge în sacul vaginului dorsal. Mâna, înmănușată, se plasează din nou în rect, se identifică cervixul și se împinge ușor spre înainte pentru a se întinde pliurile, iar cu degetul mic se reperează orificiul cervixului (fig. 4.1). Prin mișcări de ghidaj se dirijează vârful pistolului spre degetul mic, și prin mișcări ușoare se identifică orificiul cervical. Odată reperat, se împinge ușor vârful pistolului până la nivelul corpului uterin. La acest nivel se simte vârful pistolului prin traversul peretelui uterin. Se apasă pe piston pentru inocularea spermei. Este indicat ca sperma să fie depusă la baza coarnelor uterine (Runcenu ș.a., 2008; Groza ș.a. 2006; Birtoiu și Seiciu, 2004; Cernescu, 2005; Sonea, 2003).

Avantajele metodei:

1. oferă posibilitatea aprecierii statusului uterin și a dezvoltării foliculului ovarian;
2. se depune mai profund materialul seminal;
3. reduce riscul răspândirii infecțiilor genitale;
4. se folosește un instrumentar simplu, ușor de manipulat;
5. nu necesită stand de contenție, sau contenția riguroasă.

Dezavantajele metodei:

1. nu permite examenul mucoasei vaginale și a stării cervixului sau descoperirea diverselor anomalii vagino-cervicale;
2. necesită manualitate și experiență din partea operatorului.

Metoda colposcopică

Această metodă presupune introducerea pistolului de inseminare în cervix după o prealabilă deschidere a conductului vestibulo-vaginal cu ajutorul speculumului vaginal. Se face toaleta regiunii ano-vulvare cu apă și săpun (Runcanu ș.a., 2008).

Speculumul vaginal dezinfectat, lubrifiat și având aceeași temperatură cu cea a corpului femeii, se introduce prin vulvă în vagin. Se introduce cu valvele închise și înclinate la 90°. Speculumul întâmpină o ușoară rezistență la

nivelul mușchilor vestibulari, apoi el pătrunde cu ușurință, îndepărtând pereții vaginali. Odată ajuns la nivelul vaginului, se rotește cu 90° în sens invers, după care se deschid valvele. Cu o sursă de lumină se examinează tabloul vaginal (starea mucoasei vaginale, a cervixului, întredeschiderea sa și mucusul caracteristic de călduri). Cu cealaltă mână se introduce pistolul de inseminare, prin tunelul realizat de speculum, până la deschiderea cervixului, căutând prin dirijarea lui, să avanseze cât mai mult prin canalul cervical.

Depunerea spermei se realizează, prin apăsarea pistonului pistolului (fig. 4.1 și fig. 4.2).

Avantaje: este mai ușor de executat de către operator, se poate examina starea mucoasei vaginale, și se poate examina cervixul.

Dezavantaje: nesterilizarea speculumului poate transmite anumite infecții între femele, dacă speculumul nu este la temperatura corpului, se declanșează secreția de adrenalină, se produc contracții, mișcări bruște, eventual traumatisme.



Fig. 4.1 Înmormarea artificială la bivoliță prin metoda tactil-recto-cervicală
Fig. 4.1 Artificial insemination in buffaloes by the recto-cervical tactile method

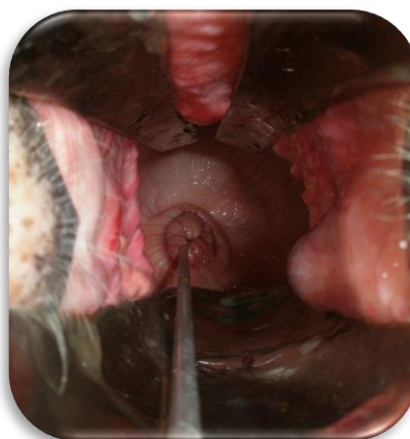


Fig. 4.2 Aprecierarea tabloului vaginal și I.A., (Runceanu L 2008)
Fig. 4.2 Vaginal appearance and I.A.

4.1.2. Hormonii utilizați în sincronizarea estrului la bivolițe

Similitudinile reproductive dintre bubaline (*Bubalus bubalis*) și bovine (*Bos indicus*) permit ca tehnologiile de management reproductiv dezvoltate pentru vaci să fie aplicate și la bivolițe (Baruselli ș.a. 2002).

Pe baza informațiilor obținute prin investigarea aspectelor endocrinologice în cazul bivolițelor și prin corelarea rezultatelor obținute la vaci, în sincronizare estrului au fost folosite diverse preparate hormonale. Astfel,

PGF2 α , progestageni, GnRH, individual sau în combinații cu FSH sau PMSG sunt hormonii utilizați pentru controlul ciclității sexuale la bivolițe.

Prostaglandinele

PGF2 α este cea mai folosită prostaglandină în cercetările făcute pe animalele dar și în practică. În 1966 Babcock afirma pentru prima dată că prostaglandinele ar putea fi agenți luteolitici, acest fapt fiind confirmat în 1969 de către Phariss și Wyngarden. După 1971, Goding și col. au stabilit că PGF2 α de origine uterină are un efect luteolitic la oi (Baruselli, 2001). Niswender și colaboratorii au propus ipoteza conform căreia, PGF2 α ar induce regresia corpului luteal. Ei au evidențiat faptul că efectele vasoconstrictive ale PGF2 α , pot induce hipoxie, care va duce la luteoliză. În 1972, s-a descoperit efectul luteolitic al prostaglandinei la vacă, în urma administrării acesteia în zilele 5 și 6 ale ciclului sexual. Furr și Cooper au înregistrat o activitate luteolitică în urma administrării intramuscular, a unei singure doze (500 μ g) de cloprostenol, o prostaglandină sintetică cu structură asemănătoare cu cea a PGF2 α naturale. Mecanismul prin care PGF2 α ajunge din endometru la ovar este unic, acesta trecând prin peretele venei utero-ovariene, în artera ovariană, iar de aici în stroma ovarului și la corpul luteal.

Eficiența diverselor tratamente hormonale a fost publicată și a indicat o varietate sezonieră surprinzătoare la bubaline. Rata de inducere a estrului după o singură doză sau două de PGF2 alfa a fost situată între 60 - 80% ceea ce a dus la o concepție de 45 – 50% în timpul sezonului de împerechere (Barile, 2012). În extrasezon au fost observat un procent al inducerii estrului de 44 - 63% și al concepției de 13 - 25% (De Rensis ș.a., 2005). Totuși, atunci când FSH, GnRH sau PMSG a fost administrat împreună cu PGF2 alfa, concepția în timpul verii (extrasezon) a fost vizibil îmbunătățită (Crudeli ș.a. 2010).

Limita majoră a PGF2 α este reprezentată de faptul că nu are eficiență la animalele care nu au CL activ. Se efectuează două administrări la interval de 11 - 14 zile (CL funcțional). Pot fi utilizate produse naturale, ca Dinoprost, Lutalyse sau analogi sintetici: Cloprostenol (Estrumate, Oestrophan, Proliz,), Luprostiol (Prosolvon). IA se poate face între 72 și 96 de ore de la ultima administrare. La 48 de ore de la a doua doză de PGF se poate administra GnRH sau estradiol (Popovici și Budantev, 2002, Youngquist și Walter R. 2007 citați de Pall Eموke, 2020).

Hormonul de eliberare a gonadotropinelor

Gn-RH este secretat de neuronii specializați ai nucleilor arcuați din hipotalamus, este cantonat în veziculele sinaptice de la extremitatea axonilor și apoi eliberat în sistemul port hipotalamo-hipofizar. În hipofiza anterioară, Gn-RH acționează asupra celulelor specializate în secreția de FSH (hormon de stimulare foliculară) și LH (hormon luteinizant), stimulându-le secreția. La

nivelul zonei hipofizotrope din hipotalamus există 2 centri: centrul tonic (prezent la femele și la masculi) ce duce la eliberarea continuă a gonadotropinelor, și centrul ciclic (doar la femele) care secretă la un nivel ridicat neurosecreții în faza foliculară a ciclului sexual.

Nivelul secreției ciclice este reglat printr-un feed-back pozitiv de către estradiol și printr-un feed-back negativ de către progesteron. Eliberarea Gn-RH-ului din centrul tonic se realizează într-o manieră spontană și ritmică. Episoade scurte de descarcare a Gn-RH-ului se produc la intervale de 1,5 – 2h pe parcursul fazei foliculare. În timpul fazei luteale, descărcările de GnRH se produc la 4 - 8 ore.

Secreția neurală de Gn-RH este foarte scăzută (5pg / ml în circulația sangvină). Eliberarea Gn-RH-ului în circulația sistemului port hipotalamo-hipofizar se face pulsatil, ceea ce determină descărcări corespunzătoare de FSH și LH în sângele periferic. Frecvența rapidă a descărcărilor de Gn-RH are ca efect secreția preponderentă a LH-ului, iar frecvența lentă a descărcărilor de Gn-RH stimulează preponderent secreția de FSH. Locul de acțiune (țintă) al Gn-RH-ului se găsește aproape de sediul secreției sale, fapt care explică depistarea concentrațiilor foarte ridicate de Gn-RH în celulele din hipofiza anterioară. Timpul de înjumătățire a acestui hormon este foarte redus (2 - 10 minute), ceea ce face imposibilă dozarea Gn-RH-ului în circulația periferică (Sharma ș.a., 2014).

În anii 1940-1950 au apărut primele cercetări legate de Gn-RH, efectuate de Geoffrey Harris și col. Aceștia au susținut că hipotalamusul reglează secreția glandei pituitare prin eliberarea de factori care ajung la hipofiză prin intermediul vaselor sanguine hipofizare (axul port hipotalamo-hipofizar).

În anul 1971 s-a raportat că o polipeptidă din hipotalamus, numită gonadoliberină, este responsabilă de dictarea secreției hormonului luteinizant (LH) și a celui de stimulare foliculară (FSH). Tot în aceeași perioadă s-au izolat LH-ul și FSH-ul din hipotalamusul porcin, stabilindu-se și structura moleculară a acestora.

Inducerea ovulației în urma administrării unei injecții cu Gn-RH a fost demonstrată la vacile de lapte și care alăptau. Efectele produse de gonadotropină par a fi indirecte, acționând prin intermediul hormonului luteinizant și a celui de stimulare foliculară, produși de hipofiză. Ulterior au apărut substanțe analoge Gn-RH-ului, care au un efect mai puternic decât gonadoliberina naturală. Utilizarea Gn-RH-ului în orice etapă a ciclului sexual a stat la baza dezvoltării unor programe de sincronizare a estrului prin inducerea valurilor foliculare și selecția unui folicul dominant

Gestagenii. Hormonii gestageni se clasifică în hormoni naturali (pregnenolon, progesteron, 20- α -hidroxiprogesteron) și hormoni sintetici (Fluorogesto, Medroxiprogesteron, Melengestrolacetat etc.).

Cel mai evident gestagen natural este progesteronul. Secreția progesteronului este produsă, în principal, de către corpul luteal (CL); cantități mai mici sunt secretate de celulele granuloasei, testicul, corticosuprarenală și placenta. Biosinteza progesteronului decurge din colesterol. După fenomenul de ovulație are loc formarea țesutului luteal și organizarea corpului luteal, care împreună cu prolactina (LTH) răspund de secreția de progesteron.

Principiul metodei de sincronizare al estrului la bubaline constă în inhibarea/blocarea apariției estrului și ovulației prin administrarea de hormoni gestageni (9 - 13 zile), realizând astfel blocarea secreției hipofizare de hormon luteinizant (LH). După încetarea administrării progestinelor are loc sinteza și eliberarea de GnRH și în câteva zile apariția estrului. Pentru regresia timpurie a corpului luteal se recomandă administrarea de estrogeni la începutul tratamentului. Perioada de administrare poate fi scurtată (7 - 9 zile) dacă la sfârșitul tratamentului se administrează o doză de prostaglandină (PGF2 α) (Pall și Cenariu, 2020).

4.1.3. Protocoale terapeutice privind sincronizarea estrului la bivolițe

Sincronizarea estrului la bubaline reprezintă o metodă biotehnică prin care se poate face înșămânțarea artificială (IA) la un număr mare de femele la o dată previzibilă.

Aceasta metoda prezintă avantaje importante, precum scurtarea service periodului, reducerea dificultăților de detectare a căldurilor și o organizarea mai eficientă a IA. Prin sincronizarea estrului se obțin produși în sezonul dorit și o mai bună gestionare a eficienței reproducției. Prezintă importanță pentru premisa transferului de embrioni și pentru îmbunătățirea productivității efectivelor de animale (Pall și Cenariu, 2020).

Întrebuințarea protocolelor hormonale asociate cu FTAI (înșămânțare artificială la timp fix s-au programată) face ca reproducția la bivolițe să fie mai avantajoasă și practică, în deosebi în timpul sezonului de lipsă a activității sexuale (Arile ș.a., 1996).

Sincronizarea estrului duce la sporirea fertilității reducând perioada între fătări. Au fost dezvoltate mai multe metode de sincronizarea estrului la bovine (Ahmad ș.a., 2011). Cele mai folosite protocoale includ progesteronul, prostaglandina F2 α și estrogenul, întrebuințate separate sau în diverse combinații (De Rensis și Lopez-Gatius, 2007).

Programele de reproducere controlată care nu necesită identificarea estrului au fost studiate la bovine (Driancourt, 2001; Macmillan, 2010).

Modelele de sincronizare la bubaline (De Rensis ș.a., 2005) au fost adoptate de la bovine, acestea fiind manipularea concentrației de progesteron periferic și manipularea creșterii foliculare și inducerea ovulației.

Manipularea concentrației de progesteron periferic

Corpul luteal (CL) format pe ovar după ovulație produce progesteron, care exercită un feedback negativ asupra eliberării gonadotrofinei, astfel încât evenimentele endocrine care conduc la maturarea foliculului preovulator și ovulația succesivă sunt inhibitate până când scade titrul progesteronului în urma regresiei CL (Barile, 2012). Astfel, prin controlul duratei de viață a CL, este posibil controlul ovulației și sincronizarea estrului.

Două abordări pot fi folosite pentru a controla sau limita durata de viață a CL, respectiv inducerea luteolizelor premature folosind prostaglandine și prin simularea funcției CL (administrarea pe termen lung a progesteronului sau progestagenilor, urmată de retragerea bruscă).

Inducția luteolizelor

Programele inițiale de sincronizare a estrului s-au axat pe modificarea ciclului estral prin regresarea CL cu administrarea prostaglandinei.

Prostaglandina F2 alfa (PGF2α) este molecula cheie, secretată de uter, responsabilă de regresia CL la mai multe specii, inclusiv bivoli, în cazul în care animalul nu a conceput. La bivoli, s-a raportat că nivelele de progesteron circulante au scăzut în decurs de 1 oră de la tratamentul cu PGF2α, iar dovada apoptozei a fost demonstrată la 18 ore după tratament (Shah ș.a., 2014).

Preparatele PGF2α disponibile în comerț, administrate în timpul fazei luteale (ziua a 5-a până la a 17-a zi a ciclului estral), în prezența unui CL funcțional, vor avea ca rezultat luteoliză, scăderea progesteronului și revenirea la estru în 2 - 3 zile.

Răspunsul bivoliilor la administrarea PGF2α ar depinde de concentrațiile plasmatice ale progesteronului și de dimensiunea CL înainte de tratament.

S-a constatat că vacile de bivoli care nu au ovulat după tratamentul cu PGF2α au avut concentrații plasmatice mai scăzute de progesteron și o zonă a CL mai mică înainte de tratament în comparație cu vacile care au ovulat după tratament; în plus, intervalul de la tratament până la ovulație ar depinde de starea foliculară înainte de tratament [Brito ș.a., 2002).

Similar cu protocoalele utilizate la bovine, prostaglandinele au fost administrate bivoliilor ca o singură injecție (metoda cu o singură lovitură) sau două injecții separate prin 11 - 14 zile (metoda cu două lovituri).

Metoda PGF2α One-Shot

În această abordare, numai bivolițele cu CL funcțional, adică în zilele 5 - 17 ale ciclului estral, pot fi tratate cu prostaglandine. Studiile la bovine au

arătat că vacile tratate cu o singură doză de PGF2 α atunci când a fost prezent un CL activ, au revenit la estru în decurs de 2 - 3 zile (Tervit ș.a., 1973).

La bubaline, s-a constatat că răspunsul la tratamentul cu o singură injecție de PGF2 α a fost similar cu cel al bovinelor. Mai mult, comportamentul de estru și schimbarea endocrină după luteoliza indusă de PGF2 α au apărut similare cu cele apărute în timpul estrului natural (Chohan ș.a.1992).

Metoda cu o singură administrare are dezavantajul că animalele trebuie examinate transrectal și scanate cu ultrasonografie înainte de a fi tratate cu PGF2 α (Plunkett ș.a., 1984).

Datorită caracteristicilor slabe palpabile ale CL la bivolițe, utilizarea PGF2 α ar putea prezenta dificultăți atunci când un scanner cu ultrasunete nu poate fi utilizat.

Metoda PGF2 α Two-Shot

Administrarea a două doze de PGF2 α la interval de 11 zile oferă posibilitatea sincronizării bivolițelor cu estru în mod aleatoriu, fără referire la starea lor exactă ovariană (Barile, 2012), similar cu protocolul elaborat pentru bovine (Pursley ș.a., 1997). Toate femelele programate pentru sincronizare primesc PGF2 α în ziua 0 și în ziua 11 a tratamentului (fig. 4.3).

Această metodă de tratament se folosește pentru a grupa cât mai mult ciclurile sexuale și apariția estrului la un lot de femele apte pentru reproducție.

Important în utilizarea acestei scheme de tratament este că la momentul primei injectări de PGF2 α numai la acele animale care au un CL funcțional (adică ziua 5 - 17 a ciclului sexual) tratamentul va avea efect. Aceste animale vor ovula, iar la momentul celei de-a doua injecții cu PGF2 α , acestea vor fi la aproximativ ziua 8 a ciclului următor. Animalele care nu au răspuns la prima injecție (adică cele între ziua 18 și ziua 4 a ciclului) ar trebui să prezinte un CL sensibil la momentul celei de-a doua injecții. Prin urmare, toate animalele vor fi în faza luteală la momentul celei de-a doua injectări a PGF2 α (Barile ș.a., 2004).

Diferiți autori au utilizat metoda cu două administrări în controlul estrusului la bivoli, adesea utilizând un interval de 11 zile între două doze consecutive.

Limitarea majoră a acestor scheme de tratament cu prostaglandine este că pentru a fi eficientă PGF2 α , un CL funcțional trebuie să fie prezent pe ovar. Prin urmare, PGF2 α este ineficientă în inducerea estrului la junincile de bivoli prepubere și la vacile de bivoli anestrice, deoarece acestea nu au un CL funcțional.

Chohan ș.a., (1993) au sincronizat bivolițe cu PGF2 α și au raportat o rată a fertilității la IA de 22,8% în afara sezonului de reproducere și 53,3% în timpul sezonului de reproducere, concluzionând că utilizarea PGF2 α pentru

sincronizarea estrului trebuie făcută la animale cu un CL funcțional și, de preferință, în perioada considerată sezon de reproducere.

Aceste date au fost, de asemenea, confirmate într-un studiu ulterior în care au fost comparate doze diferite de PGF2 α . Bivolitele au fost tratate cu 125 pg și 500 pg cloprostenol, ratele de concepție (RC) obținute au fost de 47,8 vs 53,1% în timpul sezonului de reproducere și de 23,5 vs 25,6% în timpul sezonului de reproducere redus. Ratele de concepție au fost diferite între sezoane, dar nu între tratamente în același sezon (Chohan, 1998).

Într-un studiu amplu efectuat pe 300 de bivolițe egiptene, administrarea a două injecții cu PGF2 α la interval de 11 zile a avut ca rezultat o creștere de 53% - 70% a RC (cu AI la estrusul detectat) cu diferite molecule de PGF2 α (dinoprost trometamină, cloprostenol sodiu și luprostiol) (Baruselli ș.a., 2003).

Utilizarea progestinelor

Prin această metodă se produce inhibarea apariției estrului și implicit a ovulației prin administrarea hormonilor gestageni pentru o perioadă de 9 - 13 zile, realizându-se blocarea secreției hipofizare a hormonului luteinizant (LH). După întreruperea administrării progestinelor se produce sinteza și eliberarea de GnRH și apariția căldurilor după câteva zile. (Popovici și Budanțev, 2002).

Progesteronul exogen sau derivații sintetici (progesteronii) inhibă secreția gonadotropinelor din glanda pituitară, inhibă maturizarea foliculară și ovulația și împiedică o femelă să intre în estru până la îndepărtarea lui (Ambrose ș.a., 2005).

Utilizarea progesteronilor la bivolițe s-a dovedit a fi utilă pentru inducerea estrului fertil la junincile ciclice, pentru creșterea fertilității în afara sezonului de reproducere (sezon de reproducere redus) și pentru sincronizarea estrului pentru o perioadă fixă a IA (Ali și Fahmy, 2007).

Progestinele pot fi administrate pe cale orală (melengesterol acetat), pot fi administrate subcutanat într-un implant la nivelul urechi (norgestomet) sau, metoda cea mai practică, într-un dispozitiv intravaginal impregnat cu progesteron (PRID / CIDR) (tabelul 4.2).

Pentru sincronizarea aleatorie a unui grup de femele, indiferent de stadiul ciclului estral, este necesar să le tratăm cu progesteron / progestine pentru o perioadă corespunzătoare lungimii fazei luteale naturale; în caz contrar, CL poate trăi mai mult decât durata tratamentului cu progesteron / progestine (Ambrose ș.a., 2005).

Cu toate acestea, tratamentul cu progestine pe termen lung (adică 16 zile ca o fază luteală naturală) conduce la o rată scăzută de concepție, probabil datorită efectelor adverse asupra mediului intrauterin. Prin urmare, este de preferat un tratament pe termen scurt (7 - 12 zile), totuși, în acest caz, este necesar să se includă un tratament PGF2 α pentru a elimina orice CL funcțional în momentul eliminării dispozitivului (fig. nr. 4.3) (Borghese ș.a., 1993).

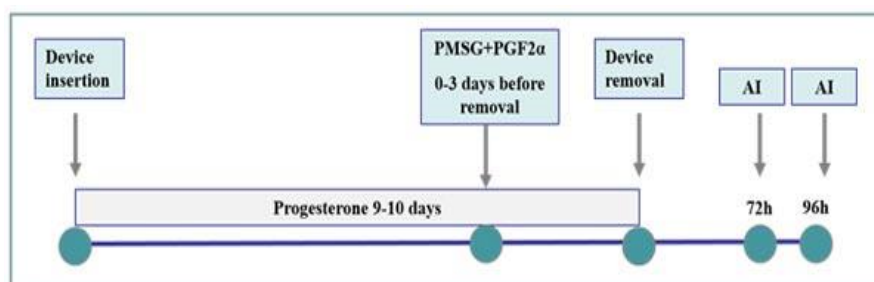


Fig. 4.3 Schema de sincronizare a estrului la bivoliță bazată pe simularea funcției CL utilizând dispozitive intravaginale progesteronice

Fig. 4.3 Estrus synchronization pattern in buffalo cow - stimulation of CL function using intravaginal progesterone devices

Talelul 4.2

Tratament hormonal pentru sincronizarea estrului și aplicarea IA la timp fix; utilizare de progestine intravaginale (PRID/CIDR/DIB) (<http://www.ivis.org/>)

Table 4.2

Hormone treatment for synchronization of estrus and AI application at a fixed time; use of intravaginal progestins (PRID / CIDR / DIB) (<http://www.ivis.org/>)

Referințe	Țară	Tratament	Perioadă	Rata concepției (%)
Rao and Rao	India	PRID	Sezon de reproducere	40.7 25.3
Sing ș.a.	India	PRID PRID + PMSG	Vară	8 - 28 50.0
Murugavel ș.a.	India	CIDR + GnRH CIDR + 500 IU eCG + GnRH	Anestru	27.3 40.6
Carvalho ș.a.	Brazilia	DIB + GnRH DIB + 400 IU eCG + GnRH	În afara sezonului de reproducere	39.4 52.7
Baruselli ș.a.	Brazilia	CIDR + eCG + hCG	În afara sezonului de reproducere	53.5
Barile ș.a.	Italia	PRID PRID + 500 IU PMSG	În afara sezonului de reproducere	17.5 26.0
Barile ș.a.	Italia	PRID + 1000 IU PMSG	În afara sezonului de reproducere	56.7
Barile ș.a.	Italia	PRID + 1000 IU PMSG PRID + 1000 IU PMSG + GnRH	În afara sezonului de reproducere	64.5 45.2
Barile ș.a.	Italia	PRID + 1000 IU PMSG	În afara sezonului de reproducere	47.8

Tratamentul cu ajutorul dispozitivelor de eliberare internă controlată a medicamentului CIDRs (*Controlled Internal Drug Release*) a fost creat pentru eliberarea progesteronului intravaginal a și s-a dovedit eficiența sa pentru inducerea și sincronizarea estrului la bovine. În absența unui corp luteal, dispozitivele CIDR funcționează ca un corp luteal accesoriu suprimând estrusul și ovulația pentru 7 sau mai multe zile. Aceste dispozitive sunt confecționate în formă literei T, dintr-un elastomer siliconat. Ele sunt plasate în vagin după asepsia și antisepsia locală, cu un aplicator dezinfectat și lubrifiat. Conform protocolului aprobat în SUA, dispozitivul CIDR se aplică în ziua 0, în ziua 6 se administrează PGF2alfa, în ziua 7 se îndepărtează CIDR, iar estrul apare după 24 - 72 de ore (Rudolph ș.a., 2011).

4.2. Biotehnologia embrio-transferului la bubaline

După definiția dată de Federația Europeană de Biotehnologie, „Biotehnologiile constau, de fapt, în utilizarea bacteriilor, levurilor și celulelor animale și vegetale de cultură, al căror metabolism și capacitate de biosinteză sunt orientate către fabricarea substanțelor specifice”, Sason Albert (1988).

Biotehnologiile de reproducție reprezintă ansamblul metodelor, procedeele sau operațiilor care se folosesc pentru obținerea în condiții optime, a unor noi generații de animale și au ca scop ameliorarea într-un ritm accelerat a efectivelor de animale și a stării lor de sănătate, în condițiile reducerii prețului de cost/unitatea de produs.

Tehnologiile de reproducere asistată au fost introduse pentru a depăși problemele de reproducere inerente, pentru propagarea rapidă a germoplasmei superioare și pentru a reduce intervalele de generare. Aceste tehnologii oferă o sursă excelentă de embrioni pentru desfășurarea cercetărilor de bază în fiziologia dezvoltării, creșterea animalelor de fermă și pentru aplicarea comercială a tehnicilor biologice emergente precum clonarea și transgenesisul. În ultimele două decenii, s-au făcut progrese considerabile în ceea ce privește înțelegerea fiziologiei reproducerii bivoliilor, cu toate acestea, recenziile anterioare (Palta și Chauhan, 1998; Gasparrini 2002) și studii mai recente sugerează că rata producției de embrioni transferabili rămâne la același nivel. (Manjunatha și colab., 2009). Rezultatele au fost destul de variabile între laboratoare și sunt cel mai probabil legate de diferențele în fiziologia embrionului, metabolismul și cerințele culturii în rândul bivoliilor. Sunt necesare, de asemenea, studii suplimentare pentru îmbunătățirea crioconservării embrionilor produși in vitro (Bogdan A.T., ș, a., 2010)

Transferul de embrioni se referă la procesul de reproducere asistată, când embrionii sunt plasați în uterul unei femele cu scopul de a realiza o gestație. Procesul de transfer presupune realizarea mai multor pași, existând

tehnologii diferite, dar, în general, se urmăresc: generarea și obținerea embrionilor de la femele donatoare, iar apoi transferul fiecărui embrion la femele receptoare (Zamfirescu Stela și Șonea A., 2004).

4.2.1 Istoricul embrio-transferului la bivoliță

Deși ce dintâi raport al fătării primului vițel rezultat în urma transferului embrionilor la bivoliță a apărut cu mai mult de douăzeci de ani în urmă (Drost, 1983), cercetarea ulterioară a producției de embrioni (cum ar fi superovulația și recuperarea embrionilor) chiar și în țările în care bivoliile reprezintă baza industriei produselor lactate (India și Pakistan) a fost extrem de lentă.

Primul program comercial de transfer de embrioni, de la începutul anului 1970, presupunea o expunere chirurgicală medio-ventrală a uterului și ovarelor, iar donatoarea se afla sub anestezie generală. Apariția prostaglandinei F2 α a făcut ca sincronizarea vacilor donatoare și a celor receptoare să fie mult mai practică.

Intervenția chirurgicală și anestezia limita transferul de embrioni, datorită metodei laborioase și timpului necesar recuperării. Drept consecință, la jumătatea anului 1970 au fost introduse metodele de recoltare a embrionilor nechirurgicale (metodele de spălare a uterului - flushing), iar spre sfârșitul anului au apărut tehnici de transfer al embrionilor la vacile receptoare prin metode nechirurgicale, putând fi realizat, astfel și în ferme (Toba G, 2010).

Odată cu dezvoltarea metodelor de congelare a embrionilor, utilizând fie dimetil-sulfoxid sau glicerol ca și crioprotectori (Wilmut și Rowson, 1973), transferul de embrioni a devenit o tehnologie mult mai eficientă, datorită faptului că nu mai era dependentă de disponibilitatea receptoarelor imediat după recoltarea.

Primul vițel obținut în urma transferului de embrioni congelați a avut loc în anul 1973, având ca bază un experiment din anul 1972 care anunța supraviețuirea unui embrion de șoarece la o temperatură de -196°C.

Există două proceduri disponibile în prezent pentru a produce embrioni de la femelele donatoare (Ochea M. 2015) :

1. Superovulația, urmată de inseminare artificială, iar apoi spălarea uterului pentru a recolta embrionii și
2. Fertilizarea in vitro care constă în recoltarea ovulului de la nivelul ovarelor femelei apoi maturarea și fertilizarea acestuia în afara corpului până când aceștia pot fi implantați în uterul femelei receptoarei.

4.2.2. Dezvoltarea embrionară

După fertilizarea și fuziunea gametilor, zigotul suferă diviziuni mitotice ulterioare, care determină formarea blastomerilor. Primul clivaj al zigotilor cu apariția unui embrion cu 2 celule a fost înregistrat în ziua 2 - 3 de la estru la

bivolițe. Diviziunile ulterioare continuă secvențial. Aceste celule, cel puțin în stadiile incipiente ale dezvoltării, pot fi considerate pluripotente, deoarece au capacitatea de a se dezvolta în doi embrioni separați. Această caracteristică a fost demonstrată până la stadiul de 8 celule la bovine și se crede că este similară la bivoli (Neglia ș.a., 2009; Senger, 2012).

Această etapă de dezvoltare (8 - 16 celule) este fundamentală. De fapt, în această perioadă are loc activarea genomului embrionar care este esențială pentru atingerea competenței de implantare. Odată ce genomul embrionar este activat, embrionul crește rapid pentru a forma un blastocist. Unele studii (Karaivanov, 1987; Chantaraprateep ș.a., 1984) indică o rată mai rapidă de dezvoltare embrionară la bivoli comparativ cu bovinele. Aceste rezultate au fost confirmate din alte studii efectuate in vitro care demonstrează că embrionii de bivoli sunt cu 12 - 24 ore mai avansați decât omologul bovin care se dezvoltă în paralel. Oocitele și embrionii de bivoli rămân în oviduct o perioadă variind de la 74 și 100 de ore după fecundare și ajung la uter la 96 - 108 h (4,5 - 5 zile) după fertilizare. Se pare că embrionii bubalini se află în stadiul morulei atunci când ajung în uter similar cu cel descris la bovine la 120 de ore. În plus, în diverse studii care au utilizat utere din abator, embrionii cu 8 celule au fost recuperați din coarnele uterine în ziua a 5-a de estu, sugerând un transport mai timpuriu al embrionilor în uter.

Se pare că formarea blastocistului este inițiată în general atunci când zigotul ajunge în uter. Ruptura zonei pelucide (eclozarea blastocistului) reprezintă evenimentul de trecere la o nouă etapă de gestație a embrionului. În acest moment supraviețuirea gastrulei este strict dependentă de mediul uterin trofoblastul venind direct în contact cu embriotroful uterin. Prin urmare, o producție adecvată de progesteron și reacția uterului la progesteron sunt considerate necesare pentru supraviețuirea embrionilor. Datele privind dezvoltarea embrionilor bubalini de la eclozarea blastocistului până la implantare sunt rare. S-ar putea face ipoteza că pot apărea evenimente similare celor înregistrate la alte rumegătoare, cum ar fi bovine și ovine. Conform datelor descrise la aceste specii, după eclozare, se observă o creștere logaritmică și o alungire a gastrulei. Există cercetări pe utere de bivoliță recoltate după sacrificare care arată că blastociștii recuperați și mășurați au avut dimensiuni de 112 / 108 mm în ziua 10 și 328 / 170 mm în ziua 15 sugerând o creștere de 3 ori a lungimii între ziua 10 și ziua 15 (Senger, 2005).

Embrionul filamentos este capabil să ocupe cornul contralateral din ziua 18 de gestație la bovine. Deoarece alungirea embrionară a fost observată și la bivolițe, este probabil că acesta să treacă în cornul negestant similar ca la bovine.

Hiperplazia progresivă și extinderea celulelor trofoblaste are ca rezultat alungirea embrionară, permițând dezvoltarea membranelor extraembrionare în

tot uterul. Prin acest mecanism, embrionul este capabil să blocheze sinteza PGF2 α și să evite luteoliza. De fapt, se știe că la bovine, recunoașterea maternă a gestației are loc între ziua 16 și 19 după inseminare și este probabil similară și la bivoli.

Acest proces este mediat de mai multe molecule. Primul mesager care trebuie înregistrat este Interferonul- τ (IFN- τ), care este produs de embrionul elongat (viitoarele anexe fetale). IFN- τ a fost recunoscut la multe specii de rumegătoare inclusiv la bivoli și joacă un rol fundamental în acest proces, prin legarea la endometru și inhibarea sintezei receptorilor de ocitocină. În același timp, IFN- τ este capabil să inducă producerea mai multor proteine, prin legarea de porțiunea apicală a glandelor uterine. Sinteza acestor proteine îmbunătățește mediul uterin și favorizează supraviețuirea embrionilor (Senger, 2005).

4.2.3. Embriotransferul Direct (*In VIVO*)

Transferul de embrioni este folosit pentru a exploata genetica femelei, în același fel în care materialul seminal congelat este folosit pentru a exploata genetica masculului. Tehnologiile avansate de transfer de embrioni sunt extrem de folositoare la specii cum sunt vacile sau bivolițele care produc 1 vițel pe an. Comparativ, cu ajutorul transferului de embrioni, se pot obține între 9 - 12 viței pe an, de la o femelă productivă.

Avantajele și dezavantajele pe care le conferă această biotehnologie sunt structurate pe mai multe niveluri: științific, economic, zootehnic cât și sanitar- veterinar. Apreciem că una dintre cele mai moderne metodologii de evaluare a calității ovocitelor/embrionilor, se bazează pe sistemele computerizate de analiză a imaginilor video reprezentând embrioni sau ovocite. Această metodologie, implică, determinări la nivelul subcomponentelor ovocitare/embrionare, care să fie relevante și concordante cu viabilitatea și evoluția normală in vitro (Bogdan 2001).

Prin donatoare se înțelege femela din specia bubaline care produce embrioni după ce a fost în prealabil supusă tratamentului hormonal (poliovulație sau superovulație) expulzând în același timp mai multe ovule susceptibile de a fi fecundate. Femelele donatoare se aleg în funcție de mai multe criterii:

Etapele ce trebuie parcurse în cazul transferului de embrioni:

- Selecția și pregătirea bivolițelor donatoare;
- Selecția și pregătirea bivolițelor primitoare (receptoare);
- Sincronizarea estrului și ovulației la bivolițele donatoare și primitoare;
- Inducerea poliovulației și însămânțarea artificială a bivolițelor donatoare;
- Recoltarea embrionilor;
- Examinarea, clasificarea și conservarea embrionilor;

- Transferul embrionilor.

Prin donatoare se înțelege femela din specia bubaline care produce embrioni după ce a fost în prealabil supusă tratamentului hormonal (poliovulație sau superovulație) expulzând în același timp mai multe ovule susceptibile de a fi fecundate. Femelele donatoare se aleg în funcție de mai multe criterii:

- valoarea genetică reprezintă criteriul principal de selectare a donatorilor întrucât transferul de embrioni constituie un mijloc important de intensivizare a producției și mai ales de maximizare a progresului genetic la bubaline;
- starea de întreținere și de sănătate a bivolițelor care trebuie să fie bună;
- funcția de reproducție normală la bivolițe atât în privința aparatului genital cât și a sistemului neuro-endocrin;
- absența genelor nedorite.

Pregătirea donatoarelor constă în următoarele etape:

- urmărirea desfășurării parturii și asistarea acesteia;
- executarea examenului preliminar și observarea căldurilor timp de 9-14 zile;
- recoltarea unor probe de lapte în vederea examinărilor;
- aplicarea tratamentului hormonal pentru inducerea poliovulației (utilizarea PMSG în doză de 500 UI/100 kg sau FSH – 40 mg în a 10-a zi a ciclului estral sau folosirea progesteronului în doză de 100 mg/zi, timp de 10 zile urmat de tratamentul poliovular cu PMSG sau FSH).

Receptoarele sunt reprezentate de tineretul femel sau bivolițe care nu au fost supuse transferului hormonal pentru inducerea poliovulației. Acestea se aleg după următoarele criterii:

- femele cu sănătate bună, în special cu uterul neafectat și cu dezvoltare corporală optimă;
- femele capabile de a asigura eficientă embriotransferului, echilibrate fiziologic, cu aptitudini maternale.

După alegerea donatoarelor și receptoarelor se aplică tratamentele de sincronizare a căldurilor .

Primul pas în cadrul acestui proces este producerea superovulației la bivolițele donatoare. În acest scop se injectează un hormon folicular de stimulare (FSH) înainte cu 40 - 48 de ore pentru ca bivolița să intre în călduri. Hormonul induce producerea unei mari cantități de ovocite, ce vor fi recoltate ulterior în urma fecundației.

În același timp, bivolițele primitoare sunt sincronizate. Lor le sunt injectați hormoni, ce reglează ciclul căldurilor. Acest fapt va garanta sincronizarea bivolițelor atât unele cu altele cât și cu bivolițele donatoare. Este foarte important ca ciclul de călduri să fie la același nivel pentru a realiza

transferul cu succes. Detectarea căldurilor este crucială în desfășurarea acestui proces.

Embrionii sunt colectați atunci când se găsesc în cornul uterin, după ieșirea lor din oviduct (între zilele 4 - 5). Cel mai frecvent, colectarea se realizează între zilele 6 - 8 după fecundație, de regulă în ziua a 7-a. Recoltarea embrionilor se face chirurgical și nechirurgical.

Mult timp, metoda chirurgicală a fost singura utilizată. Tehnica operatorie presupunea parcurgerea a două etape: laparotomia, cu exteriorizarea aparatului genital în plagă și recoltarea propriu-zisă a embrionilor prin spălarea cu un lichid cu o compoziție specială, a oviductelor (după un interval de timp mai mic de 3 zile de la înșămânțare) sau a coarnelor uterine (după un interval de timp mai mare de 4 zile de la înșămânțare).

În prezent este generalizată metoda nechirurgicală de prelevare a embrionilor, a cărei principiu constă în spălarea coarnelor uterine cu un mediu special preparat, spălare care se realizează în condiții de asepsie în a 7-a zi de la înșămânțare.

Tehnicile nechirurgicale de recoltare a embrionilor presupun mai multe operații: contenția femeiei, anestezia, vidarea rectului, toaleta vulvei, identificarea prezenței corpurilor luteali pe ovar, introducerea lichidului de spălare în lumenul coarnelor uterine, spălarea acestora, recuperarea lichidului împreună cu embrionii, identificarea și recuperarea embrionilor din lichidul recuperat și supus decantării și aprecierea morfologică a acestora.

Între momentul recuperării embrionilor și cel al inoculării lor în uterul receptoarelor, zigotii trebuie să fie menținuți în viață în condiții speciale și să fie manipulați în cele mai bune condiții tehnice și igienice. Compoziția mediilor de recoltare și cultivare a embrionilor s-a modificat frecvent în decursul timpului, pe măsură ce cunoștințele în domeniu au avansat și pe baza multiplelor experiențe întreprinse.

4.2.4. Fertilizarea *IN VITRO* în transfer de embrioni

Este o biotehnică de actualitate, prin intermediul căreia procesele fiziologice de maturare a gameților femeli și de capacitate a spermatozoizilor, fecundație și cultură a embrionilor până la stadiul transferului acestora în organismul femelelor receptoare, sunt dirijate și se produc, parțial sau total, în afara organismului femelei („in vitro”) în diferite medii de cultură. Această biotehnică, deși bazele teoretice și practice au fost puse cu circa 4 - 5 decenii mai înainte, a căpătat un interes mai deosebit în ultimele două decenii.

Etapele fecundației „in vitro” sunt:

- obținerea ovocitelor;
- maturarea „in vitro” a ovocitelor;
- capacitatea spermatozoizilor;

- fecundarea și cultura „in vitro“;
- transferul embrionilor rezultați.

Ovocitele obținute prin puncția ovarelor animalele sacrificate la abator, constituie o sursă importantă de gameți, aceste ovocite necesită a fi maturate „in vitro“. Puncția foliculilor pe animalul viu permite folosirea donatoarelor de ovocite cu potențial genetic cunoscut. Pentru recoltarea ovocitelor în astfel de condiții se poate folosi puncția foliculilor (OPU), ghidată prin ecografie transvaginală, ce permite colectarea fluidului folicular și a complexelor ovocite-cumulus.

Această tehnică poate fi repetată de mai multe ori în cursul aceluiași ciclu, fără a afecta fertilitatea ulterioară a femelei donatoare.

Maturarea „in vitro“ a ovocitelor

Ovocitele prelevate din foliculii antrali, prin laparatomie sau sacrificarea femelelor, reiau spontan meioza dacă sunt plasate într-un mediu special de cultură, la 38°C, incubate într-o atmosferă de 5% CO₂. Prezența unui cumulus compact și intact în momentul cultivării ovocitelor favorizează reluarea meiozei pentru majoritatea ovocitelor. Ruperea membranei nucleare se produce după 6 - 12 ore de cultură și emiterea primului globul polar după 24 de ore.

Capacitarea spermatozoizilor

Spermatozoizii trebuie să parcurgă o perioadă de pregătire, numită „capacitare“, care are loc „in vivo“, în tractusul genital femel. Capacitarea este o etapă pregătitoare necesară, în urma căreia spermatozoizii dobândesc capacitatea de a se fixa pe zona pelucidă a ovocitului și suferă, apoi, reacția acrozomului.

Capacitarea spermatozoizilor s-a obținut prin incubarea acestora la 37°C, timp de 1 - 2 ore, într-un mediu cu o forță ionică crescută, ceea ce a dus la detașarea proteinelor de acoperire. Actual se folosesc două metode moderne Percoll și SwimUp.

Fecundația și cultura „in vitro“ a embrionilor

Fecundarea se realizează prin cultura timp de o zi într-un mediu special a 0,1 ml suspensie de spermatozoizi, cu concentrație ridicată, împreună cu ovocite mature, în atmosferă de 5% CO₂, 5% O₂ și 90% N₂. După 24 de ore de cultură împreună cu spermatozoizii, ovocitele fecundate sunt transferate într-un mediu special în vederea dezvoltării ulterioare.

Transferul embrionilor obținuți „in vitro“

Se face în uterul femelelor receptoare, din aceeași specie, a cărei ciclu sexual a fost sincronizat cu vârsta embrionilor obținuți „in vitro“

5. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI

5. THE PURPOSE AND OBJECTIVES OF THE THESIS

Scopul prezentei teze de doctorat este de a monitoriza activitatea de reproducție a bivolițelor în condiții naturale (sezoniere), dinamica activității ovariene spontane (luni, sezon, an), apariția estrului spontan (caracteristici, particularități), monta dirijată, diagnosticul gestației și monitorizarea ei, supravegherea parturii și perioadei puerperale.

Cercetările urmăresc pretabilitatea managementului reproducției la bivolițe. S-au aplicat ca metode de lucru:

- inducerea estrului prin utilizarea diverselor scheme terapeutice și alegerea metodelor cu cele mai bune rezultate;
- înșămânțarea artificială a bivolițelor (cu estru spontan și indus) și programarea momentului pentru aceasta (FTAI);
- înșămânțarea artificială cu material seminal sexat (pentru creșterea efectivului și a productivității);
- diagnosticarea și terapia afecțiunilor ovariene;
- managementul perioadei puerperale (involuția uteină și reluarea activității ovariene), diagnosticul de gestație și monitorizarea ei.

S-a urmărit și posibilitatea de aplicare a unor biotehnologii de reproducție moderne la bivolițe. Acestea sunt:

- inducerea poliovulației (POV), monitorizarea răspunsului ovarian și alegerea protocoalelor terapeutice cele mai favorabile;
- aplicabilitate POV la bubaline;
- 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.

5.1. Cadrul organizatoric în care s-au desfășurat cercetările

Cercetările au fost efectuate în cadrul mai multor ferme de creștere a bivolițelor din localitățile Războieni - Iași și Șercaia – Brașov din România și Irsinia din Italia.

5.1.1. Ferma TERRA DI BUFALA – Războieni, Iași

"TERRA DI BUFALA" este o fermă de bivolițe exploatate pentru producția de lapte. Ferma se află în zona de N-E a României, la aproximativ 45

de km de orașul Iași, localitatea Războieni, lângă orașul Târgu Frumos (fig. 5.1).

Orașul Târgu-Frumos este situat în zona de contact a trei mari unități naturale: Podișul Sucevei, Podișul Central Moldovenesc și Câmpia Moldovei, în bazinul mijlociu al Bahluietului.



Fig. 5.1 Localizarea fermei "TERRA DI BUFALA"
(www.google.ro/maps/place/Războieni, 2016)

Fig. 5.1 Location of the farm "TERRA DI BUFALA"
(www.google.ro/maps/place/Războieni, 2016)



Fig. 5.2 Bivolul Românesc Indigen
Fig. 5.2 Indigenous Romanian

Zona orașului Târgu-Frumos grupează aspecte morfografice și morfometrice distincte la nord și la sud de valea Bahluietului.

Clima orașului Târgu-Frumos se încadrează în clima Podișului Moldovei, temperat continentală cu nuanțe de ariditate. Studiind regimul termic anual se evidențiază faptul că teritoriul orașului Târgu-Frumos se află situat între izoterma de 8 – 9°C. Temperatura medie anuală este mai ridicată în estul teritoriului de 9,1°C și mai redusă în vest de 8°C. Verile sunt secetoase și călduroase cu temperaturi medii de 19,2°C, iar iernile reci, geroase cu medii termice de -1,44°C.

Amplitudinea termică medie anuală este de 23°C ceea ce reflectă caracterul continental al climatului regiunii, reducându-se treptat de la est la vest. Din punct de vedere hidrografic, teritoriul orașului Târgu-Frumos face parte din bazinul mijlociu al râului Bahluiet.

Ferma are capital român și are ca obiectiv obținerea și dezvoltarea unui nucleu de bubaline, în vederea realizării unui lot omogen genetic pentru producția de lapte și implicit preparate din lapte de bivoliță.

Materialul biologic din această fermă este reprezentat de bivolițe din rasa Mediteraniană, varietatea Bivolul Românesc Indigen. Animalele au fost achiziționate pe parcursul mai multor ani din cumpărări de la stațiunea de

cercetare (Șercaia, Brașov), dar și prin achiziții directe din gospodăriile populației din Ardeal (fig. 5.2, fig. 5.3).

Alte nume	Bivol românesc	Other names	Bivol românesc
Țara de origine	România	Country of origin	Romania
Tip	Râu	Type	River
Utilizare	munca, lapte, carne	Use	draught; dairy; meat
Trasaturi		Traits	
Greutate	Mascul:	650-680 kg	Weight
	Femelă:	530-560 kg	Male: 650-680 kg
Înălțime	Mascul:	140-142 cm	Female: 530-560 kg
	Femelă:	131-133 cm	Height
Culoare	negru		Male: 140-142 cm
	Bivolul de râu		Female: 131-133 cm
Bubalus bubalis		Coat	black
		Water buffalo	
		Bubalus bubalis	

Fig. 5.3 Varietatea Bivolului Românesc Indigen și caracteristicile morfologice

(<https://en.wikipedia.org>, 2016)

Fig. 5.3 The variety of the Indigenous Romanian Buffalo and the morphological characteristics

(<https://en.wikipedia.org>, 2016)

În anul 2016 ferma avea un număr total de 206 bubaline. Pe categorii de vârstă acestea au fost reprezentate de 100 bivolițe (48,5%), 5 malaci – bivoli pentru montă (2,4%), 50 tineret femel (24,2%) și 51 tineret mascul (24,7%).

În anul 2017 efectivul de bubaline a înregistrat modificări privind numărul de bivoli și bivolițe pe grupe de animale. Număr total de bubaline a fost 149, în scădere față de anul anterior cu 57 bubaline (- 27,7%) (tabelul 5.1). Pe categorii de vârstă acestea sunt reprezentate de 59 bivolițe (39,6%), 2 malaci (1,3%), 70 tineret femel (47%) și 18 tineret mascul (12.1%) (fig. 5.4).

Analizând evoluția efectivului de animale pe categorii de vârstă se observă reducerea numărului de bivolițe adulte cu 41 animale (- 41%) și creșterea numărului de tineret femel cu 20 bivolițe (+ 40%), constatându-se clar preocuparea crescătorului de a înlocui efectivul matcă cu bivolițe tinere, cu potențial pentru reproducție și pentru creșterea producție de lapte.

Adăposturile destinate bivolițelor sunt construcții vechi, dar îmbunătățite și modernizate, sistemul de întreținere este liber cu front de furajare, alee de serviciu frontală, spațiu de odihnă și confort. De asemenea, bivolițele au acces la spațiu de mișcare în padoc extern (fig. 5.5 – fig. 5.10).

Nutriția este axată pe fân de lucernă, siloz de porumb și supliment proteo-vitamo-mineral. Suplimentul este alcătuit din amestec măcinat de cereale cu tărață de grâu și premix vitamo-mineral.

Tabelul. 5.1

Materialul biologic și repartizarea bubalinelor pe sex și categorii de vârstă (2016 - 2017)
 Biological material and distribution of buffaloes by sex and age categories (2016 - 2017)

Categorii animale	2016		2017		Evoluție efectiv bubaline 2017 vs. 2016
	Număr	%	Număr	%	%
Bivolite adulte	100	48.5	59	39.6	-41.0
Bivoli adulți	5	2.4	2	1.3	-60.0
Tineret femel	50	24.3	70	47.0	40.0
Tineret mascul	51	24.8	18	12.1	-64.7
Total	206	100.0	149	100.0	-27.7

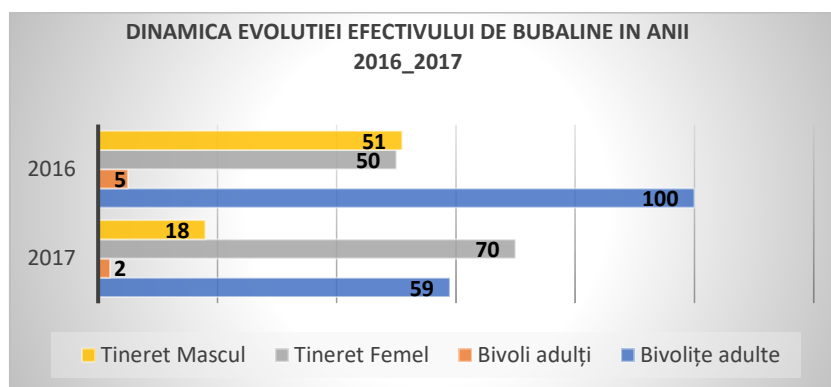


Fig. 5.4 Evoluția efectivului de bubaline în perioada 2016 – 2017

Fig. 5.4 Dynamics of buffaloes in the period 2016-2017

Mulsul se efectuează o dată pe zi, dimineața, acesta se face cu o instalație mobilă. În fermă se utilizează administrarea de ocitocină înaintea mulsorii datorită efectului de stimulare al eliberării laptelui, doza fiind de 1 ml (10 U.I.) / femelă, i.m.



Fig. 5.5 Bivolite aflate în padoc acoperit
 Fig. 5.5 Buffaloes in covered paddock



Fig. 5.6 Tineret mascul 9 – 15 luni
 Fig. 5.6 Young male 9 - 15 months



Fig. 5.7 Tineret femel de 20 - 30 luni
Fig. 5.7 Young female 20 - 30 months



Fig. 5.8 Tineret mascul de 15 – 24 luni
Fig. 5.8 Young male buffalo 15 - 24 months



Fig. 5.9. Tineret bubaline femel în vârstă de
12 – 20 luni
Fig. 5.9 Young female buffalo aged 12 - 20
months



Fig. 5.10 Întreținerea bubalinelor, lot de
tineret mascul, în boxa comună
Fig. 5.10 Maintenance of buffaloes,
male youth group, in the common box

Media producției de lapte pe bivoliță este de 3 litri / zi, cu mențiunea că femelele aflate în lactație își alăptează vițeele în această perioadă, vițeele sunt alăptați până la vârsta de 5 – 6 luni pentru a asigura o dezvoltare corespunzătoare a acestora (fig. 5.11 - fig. 5.13).



Fig. 5.11 Lot de bivolițe gestante
Fig. 5.11 Lot of pregnant buffaloes



Fig. 5.12 Lot de bivolițe în maternitate
Fig. 5.12 Lot of buffaloes in the maternity



Fig. 5.13 Lot de bivolițe lactante împreună cu viței
Fig. 5.13 Lot of lactating bufaloes with calves

În anul 2017 au fost mulse un număr de 75 de bivolițe, având zilnic la mulsoarea de dimineață (singura efectuată pe zi) un număr de 18 – 20 femele în lactație. Producția de lapte a variat de la 60 litri de lapte / mulsoare vara și 30 litri de lapte / mulsoare iarna, variația cantității de lapte pe sezoane fiind dată de calitatea alimentației. Femelele cu o lactație bună au o medie / mulsoare de până la 10 litri de lapte / zi.

Un procent de aproximativ 40% (5 din 12) dintre bivolițele primipare au avut o perioadă scurtă de lactație de 60 de zile, cantitatea de lapte produsă fiind de sub 1 litru / zi asigurând doar alimentația vițelilor. În schimb, la bivolițele pluripare, perioada de lactație a variat în anul 2017 între 9 – 10 luni (270 – 300 zile).

Unitatea deține în proprietate o suprafață arabilă pe care sunt cultivate nutrețurile pentru animale, nutrețuri ce vor fi regăsite în rația furajeră zilnică.

Alcătuirea rațiilor furajere se face în bucătăria furajeră proprie a fermei, ce are în dotare utilaje speciale destinate acestui scop, ferma având posibilitatea să-și producă singură, în mare parte, materia primă necesară alcătuirii rațiilor. Astfel, se urmărește ca principiu de bază satisfacerea necesarului fiziologic de întreținere al animalelor, cât și realizarea unui nivel ridicat al producției de lapte (Nicolae și Șonea, 2017).

Normele de hrană aplicate în alcătuirea rațiilor furajere la bivolițele pentru lapte s-au referit la asigurarea, pe cât posibil, a următorilor nutrienți:

- necesarul de substanță uscată al rației furajere (g SU): 1,11 - 1,40 kg SU / 100 kg masă corporală, 0,46 kg SU / L lapte;
- necesarul de proteină digestibilă (g PDI): 66-70 g PDI / 100 kg greutate corporală, 50 g PDI / L lapte;
- necesarul energetic (UNL): 0,85-1,50 UNL / 100 kg masă corporală, 0,44 UNL / L lapte;
- necesarul de substanțe minerale: 6 g Ca și 4 g P / 100 kg greutate corporală, 3 g calciu și 2 g fosfor / L lapte.

Ferma de bivolițe Terra Di Bufala din localitatea Razboieni, Județul Iași, are în componență 4 adăposturi cu o lungime de 100 de m și o lățime de 30 de m.

Adăposturile sunt prevăzute cu front de furajare comun și zonă de activitate fizică într-un padoc acoperit care este situat în fața adăpostului.

În adăpostul numărul 4 sunt cazate bivolițele gestante, repartizate în 3 loturi în funcție de vârsta gestației. De asemenea, în acest adăpost sunt amenajate boxe individuale cu dimensiunea aproximativă de 7 m / 7 m reprezentate de materintate, locul unde bivolițele sunt aduse în momentul travaliului sau imediat după identificarea parturirii.

În hala numărul 2 sunt organizate spații și loturi de bivolițe aflate în perioada de postpartum. Femelele care au glanda mamară dezvoltată și asigură o lactație peste nivelul de hrănire al vițelului, sunt lotizate în sectorul 1, și acestea vor alcătui lotul bivolițelor lactante care se mulg. Femelele care nu asigură o lactație suficientă și pentru muls, vor rămâne permanent cu vițelii în sectorul 2. În unele cazuri, mai ales la primipare, sunt prezente hipogalaxii și parturienta nu asigură prin lactație nici necesarul de dezvoltare al propriilor viței, în aceste cazuri se folosesc bivolițe doici.

Bivolițele doici sunt femele cu o vârstă înaintată, 10 – 12 ani, aflate în perioada de postpartum, cu instinct matern dezvoltat și o lactație suficient de bună pentru a hrăni și alți viței. Bivolițele cu hipogalaxie și cele care se află la momentul înțărării (6 luni la primipare și 10 luni la pluripare) sunt cazate în sectorul 3, unde sunt depistate fazele estrale. Pentru stimularea reapariției estrului postpartum sunt introduși în adăpost, prin rotație, malaci (tauri de bivoli).

În fermă se folosesc la reproducție malaci cu valoare de ameliorare, proveniți de la unități diferite față de lotul fermei (pentru a nu se produce consangvinizare). Astfel, în anul 2016 au fost folosiți 3 bivoli pentru monta dirijată, aceștia au fost selectați în fermă, din totalul masculilor achiziționați la înființarea fermei (anii 2014 și 2015). Pentru anul 2017, au fost folosiți la monta dirijată doi malaci proveniți de la Stațiunea de Cercetare a Bubalinelor de la Șercaia.

În hala numărul 1 sunt organizate sectoare de creștere a tineretului femel, separat pe sexe și pe vârste, femele lotizate permanent până la vârsta de 20 - 30 de luni. Acest lot este alcătuit din vițelele de înlocuire și permanent sunt monitorizate pentru depistarea estrului.

Reproducția vacilor și vițelilor se face într-un punct de însămânțări artificiale, sub supravegherea medicului veterinar, de către un operator însămânțător. Inițial, femelele sunt supuse unui examen clinic curent în ceea ce privește starea de sănătate din punct de vedere al bolilor infecto - contagioase, parazitare și, în mod deosebit, se face un examen ginecologic al

glandei mamare. În funcție de rezultatele acestui control, se apreciază dacă femelele sunt apte pentru reproducție, iar pentru cele cu afecțiuni se întocmesc foi de observație și se stabilește conduita terapeutică adecvată, astfel încât, să fie introduse cât mai repede în procesul de reproducție.

5.1.2. Stațiune de Cercetare și Dezvoltare a Bubalinelor Șercaia, Brașov

Stațiunea de Cercetare și Dezvoltare pentru Creșterea Bubalinelor Șercaia (S.C.D.C.B. Șercaia) (Ferma II) este situată în apropierea DN 1, kilometrul 223, între localitățile Șercaia și Mândra, la 54 km de municipiul Brașov (fig. 5.14).

Stațiunea a fost înființată în anul 1981, prin desființarea fermei de vaci nr. 8, aparținând de I.A.S. Făgăraș, care realiza pierderi economice importante cauzate de morbiditate și mortalități consecutiv condițiilor pedoclimatice din zonă, exces de umiditate și plante caracteristice solurilor cu pH acid. În contextul problematicei generale de ridicare a producțiilor la bovine, un alt motiv pentru înființarea stațiunii a fost de a se găsi soluții care să asigure acest deziderat în condiții de eficiență economică, unul dintre factorii importanți vizând valoarea biologică a populațiilor de bubaline existente și posibilităților de îmbunătățire a lor în continuare.



Fig.5.14 Prezentare S.C.D.C.B. Șercaia Brașov
Fig.5.14 Presentation of the S.C.D.C.B. Șercaia Brașov

Obiectul de activitate al stațiunii este de a efectua cercetări științifice și de a dezvolta noi tehnologii de creștere a bubalinelor cu scopul aplicării rezultatelor în producție. Stațiunea aduce o contribuție importantă la ameliorarea caracterelor de producție (lapte, carne) și reproducție a bivolilor în

țara noastră, prin producerea și livrarea de animale de prasilă de înaltă valoare biologică (www.bivoli-sercaia.ro).

Unitatea este instituție publică, cu statut juridic propriu și funcționează în subordinea Academiei de Științe Agricole și Silvicultură "Gheorghe Ionescu-Șișești".

Sectorul de dezvoltare al stațiunii cuprinde ferma zootehnică și ferma vegetală.

Ferma zootehnică (biobaza experimentală) are un efectiv de bubaline care variază între 350 - 400 animale. Acest efectiv constituie materialul biologic necesar desfășurării experimentelor din programul de cercetare al stațiunii și pentru producerea de material de prasilă. Sistemul de exploatare cu circuit închis, precum și respectarea tehnologiilor și a normelor sanitare veterinare au contribuit la menținerea stării de sănătate a întregului efectiv care este indemn la bolile infecto-contagioase.

Ferma vegetală în suprafață de 535 ha teren agricol, asigură furajele necesare efectivului de bivoli din unitate. Structura furajeră permite alcătuirea unor rații adecvate pe stări fiziologice, vârstă și nivele de producție de lapte.

În sezonul cald, tineretul bubalin, bivolii, bivolițele adulte care nu sunt lactante și bivolițele gestante sunt întreținute liber, la pășune, fără a se întoarce la adăpostul permanent (din luna mai până la sfârșitul lunii octombrie) (fig. 5.15). Ulterior fătării la pășune, bivolița și vițelul sunt aduși în fermă, femela se alătură bivolițelor lactante, care în sezonul cald sunt scoase la pășune între cele două mulșori (de dimineață și seara iar, vițelul este dus în sectorul alocat creșterii tineretului bubalin, urmând să fie alăptat la tetină (fig. 5.16, fig. 5.17).



Fig. 5.15 Bivolițe la pășune

Fig. 5.15 Pasture buffaloes



Fig. 5.16 Bivolița mamă și vițelul
Fig. 5.16 The mother buffalo and the calf



Fig. 5.17 Întreținerea vițelilor în creșă
Fig. 5.17 Maintenance calves in nursery

Coordonarea activității de reproducție se realizează prin planul de montă și fătări pe baza catagrafiei. Aceasta este o lucrare tehnică, elaborată anual, cu ajutorul careia se stabilește planul de montă și fătări pentru anul ce va urma. La ferma de la Șercaia sistemul de programare a bivolițelor și vițelilor la montă, respectiv la fătare este de tip sezonier, fătările sunt concentrate în proporție de 70 – 75% din efectivul femel apt de reproducție în perioada martie-iunie, pentru a se valorifica furajele verzi din cursul verii în vederea creșterii producției de lapte.

Într-un studiu efectuat la SCDCB Șercaia pe 224 bivolițe, de la care au fost înregistrate 1335 lactații încheiate, cu înregistrarea datei montei sau IA fecunde și datei fătării, s-a constatat ca 82,95% din fătări s-au realizat în perioada lunilor aprilie - septembrie, acestea corespunzând montelor sau IA efectuate în lunile mai – noiembrie, perioadă în care bivolițele sunt întreținute în timpul zilei pe pășune (Vidu Livia și Bota 2014).

5.1.3. Ferma BRADANO RIVER - Irsinia, Italia

Ferma "BRADANO RIVER" crește și exploatează bivolițe pentru producția de lapte. Aceasta se află în zona de S - E a Italiei, la aproximativ 25 de km de județul Matera, localitatea Irsina. Ferma este dispusă la următoarele coordonate: N 40°44'36.9639", E 16°10'50.484 și la o altitudine de 212 m deasupra nivelului mării.

Ferma are capital italian și obiectivele de activitate sunt formarea și dezvoltarea unui grup de bubaline, în vederea obținerii unui lot omogen genetic pentru producția de lapte și implicit preparate din lapte de bivoliță. Ferma are ca material biologic bivolițe din rasa Mediteraneană italiană.

Ferma Bradano River din Italia are un număr total de 622 bubaline (anul 2017). Pe categorii de vârstă acestea sunt reprezentate de 340 bivolițe adulte (54,6%), dintre care 260 (76,5%) în lactație; 18 bivoli (2,9%), 233 vițele (37,4,2%), 31 tineret femel (4,8%) (tabelul 5.2).

Adăposturile au fost construite în anul 2000 și destinația lor inițială a fost pentru creșterea oilor, dar ulterior, în anul 2006 au fost îmbunătățite și modernizate pentru creșterea de bivolițe. Sistemul de întreținere este liber cu front de furajare, alee de serviciu frontală, spațiu de odihnă și confort (fig. 5.18, fig. 5.19). De asemenea, bivolițele au acces la spațiu de mișcare în padoc extern.

Nutriția a fost axată pe siloz de triticales, siloz de porumb, fân de lucernă, paie, făină de soia, făină de porumb, amestecul de tărațe, orz, pulpă de sfeclă, semințe de bumbac și suplimente vitamino-minerale (fig. 5.20).

Femele lactante au beneficiat de o rație furajeră alcătuită din siloz de triticales 10 kg, siloz de porumb 6 kg, fân de lucernă 2 kg, fân de triticales 1 kg, paie 0,5 kg, făină de soia 1,8 kg, făină de porumb 3,5 kg, 4 kg de amestec de: tărațe 38%, orz 38%, pulpă de sfeclă 12%, semințe de bumbac 12% și 0,4 kg suplimente vitamino-minerale.

Tabelul 5.2

Materialul biologic și repartizarea bubalinelor pe sex și categorii de vârstă (2017)
Biological material and distribution of buffaloes by sex and age categories (2017)

Categorii animale	2017	
	Număr	%
Bivolițe adulte	340	54.7
Bivoli adulți	18	2.9
Vițele	233	37.5
Tineret femel	31	5.0
Total	622	100.0



Fig. 5.18 Sistem de întreținere liber a bubalinelor

Fig. 5.18 Free buffalo care system



Fig. 5.19 Front de furajare din fermă

Fig. 5.19 The feeding space in the farm



Fig. 5.20 Modalitate de păstrare a nutrețurilor
Fig. 5.20 Method of preserving fodder



Fig. 5.21 Sistem de irigare al terenului
cu porumb pentru siloz
Fig. 5.21 Corn silo irrigation system

Vițelele au beneficiat de o rație furajeră alcătuită din paie 5 kg, făină de soia 1,2 kg, făină de porumb 1 kg, siloz de triticale 5 kg și 0,1 kg suplimente vitamino-minerale. Rația furajeră a vacilor în repaus mamar a fost alcătuită din 7 kg de paie, 0,5 kg făină de soia, 1 kg făină de porumb, 2 kg de siloz de triticale și 0,15 kg suplimente vitamino-minerale.

Mulsul s-a efectuat de două ori pe zi, dimineața la ora 05:00 și după-amiază la ora 17:00, acesta se face la o instalație fixă, cu 10 locuri (fig. 22). Media producției de lapte pe bivoliță este de 10,2 L / zi.



Fig. 5.22 Sistem de muls utilizat în fermă
Fig. 5.22 Milking system used on the farm

În cadrul fermei Bradano activitatea de reproducție este una continuă, în sensul că imediat după încheierea perioadei puerperale (40 – 50 zile PP) bivolițele se introduc în lotul vacilor de așteptare pentru IA. În această categorie sunt incluse bivolițele care sunt apte de reproducție după parturiție, tineret femel bubalin în vârstă de 15 – 20 luni și femelele care au fost diagnosticate negestante la examenul ecografic. După trei IA nefecunde vacile de bivol sunt montate de taur.

Unitatea deține în proprietate o suprafață arabilă de 600 ha pe care sunt cultivate nutrețurile pentru animale, nutrețuri ce vor fi regăsite în rația furajeră zilnică (fig.5.21). Furajele care au intrat în alcătuirea rațiilor au fost de cea mai bună calitate, cu digestibilitate maximă, s-a respectat cerințele nutritive conform normelor unei hrăniri echilibrate din punct de vedere energo-proteic și vitamino-mineral.

Alcătuirea rațiilor furajere s-a făcut în cadrul fermei, care a avut în dotare utilaje speciale în acest scop, acesta având posibilitatea să-și producă singură, în mare parte, materia primă necesară alcătuirii rațiilor. Astfel, s-a urmărit asigurarea necesarului fiziologic de întreținere al animalelor, cât și realizarea unui nivel ridicat al producției de lapte (fig. 5. 23 și fig.5.25).



Fig. 5.23 Depozitarea cerealelor necesare alcătuirii rațiilor furajere

Fig. 5.23 Storage of cereals necessary for the preparation of feed rations



Fig. 5.24 Utilaj agricol utilizat în fermă

Fig. 5.24 Agricultural machinery used on the farm

5.2. Concluzii parțiale

- În ferma Terra di Buffala în 2017 efectivul de vițeale a crescut cu 40%, observându-se clar preocuparea fermierului de a crește efectivul matcă. Un procent de aproximativ 40% dintre bivolițele primipare au avut o perioadă scurtă de lactație de 60 de zile, în schimb, la bivolițele pluripare, perioada de lactație a variat în anul 2017 între 9 – 10 luni (270 – 300 zile).
- În cadrul SCDCB Șercaia sistemul de programare a bivolițelor și vițelor la montă și fătare este sezonier, fătările sunt concentrate în proporție de 70 – 75% din efectivul femel apt de reproducție în perioada martie – iunie.
- Ferma Bradano River din Italia în 2017 a avut un număr de 622 de bubaline. Pe categorii de vârstă acestea au fost reprezentate de 340 bivolițe adulte (54,66), dintre care 260 (76,5%) în lactație; 18 bivoli (2,9%), 233 vițeale (37,42%), 31 tineret femel (4,8%). Media producției de lapte pe bivoliță a fost de 10,2 L / zi.

6. CERCETĂRI PRIVIND MONITORIZAREA SEZONIERĂ A FUNCȚIEI DE REPRODUCȚIE LA BIVOLIȚĂ ÎN CONDIȚII NATURALE DE CREȘTERE

6. RESEARCH ON SEASONAL MONITORING OF THE REPRODUCTIVE FUNCTION IN BUFFALOE UNDER NATURAL GROWTH CONDITIONS

Activitatea de reproducere la bivolul de râu este influențată de anumiți factori, respectiv condițiile ecologice și meteorologice, acestea fiind în strânsă legătură cu disponibilitatea alimentelor și cu eficiența reproductivă rezultată.

La unele animalele sălbatice, precum și la bivoli și bovinele convenționale crescute în sisteme de pășuni deschise, sezonul reproducerii este legat de raportul lumină / întuneric și de disponibilitatea furajelor (Zicarelli 2016). Bivoli riverani crescuți în zonele temperate cu variații termice și fotoperiodice mari în cursul anului și în care disponibilitatea biomasei furajere crește odată cu scăderea perioadei zilei, au un comportament de reproducere sezonieră. Astfel, bivoli sunt reproducători sezonieri poliestrici, dependenți de raportul de zi lumină scurtă, cu manifestări mai ridicate de estru în toamnă, sezonul optim de împerechere se desfășoară începând cu luna decembrie până în februarie, cu fătări între lunile octombrie și decembrie, urmate de înțărcare în lunile august sau septembrie (Crudeli, 2016, **Liliana Ghineț, 2016**).

Fiziologia reproducerii bivoliilor este similară cu ce a bovinelor în multe aspecte, dar există și diferențe subtile. Bubalinele prezintă o influență marcată a sezonului asupra apariției estrului, concepției și fătării la femele și a unui libidou scăzut în timpul lunilor calde de vară la masculi. S-a menționat că perioada de reproducere la speciile de bivoli este foarte variabilă (Barile, 2005, Marai, 2010), sezonul de reproducție la bubaline, în majoritatea țărilor în care se cresc, se extinde din septembrie până în martie.

6.1. Material și metodă

Cercetările privind monitorizarea sezonieră a funcției de reproducție la bivoliță în condiții naturale de creștere s-au efectuat în cadrul fermei Terra di Bufala, localizată în localitatea Războieni, județul Iași, pe parcursul anilor 2016 și 2017. Astfel, au fost morfometrate în dinamică volumul ovarelor.

Examenul clinic general a vizat toate femelele cuprinse în studiu (bivolițele adulte din fermă), utilizând marile metode semiologice ca: anamneza ginecologică, inspecția, palpația și termometria.

Anamneza ginecologică constă în consultarea evidențelor scriptice zootehnice pentru fiecare caz în parte, interesându-ne: vârsta, data parturției,

modul de desfășurare al parturii, eventualele complicații și terapia aferentă, antecedente ginecologice, afecțiunile ovariene diagnosticate, data înșămânțării, data parturii. Un aspect important pentru monitorizarea activității de reproducție este și dialogul cu îngrijitorii ce deservește aceste loturi de bivolițe.

Examenul clinic special s-a efectuat prin examenele ginecologic și palpație transrectală.

Prin examen transrectal s-au urmărit modificările de volum, consistență și tonus ale uterului, dar și aspectul ovarelor. La nivelul ovarelor s-au stabilit la fiecare examinare volumul, consistența, prezența formațiunilor fiziologice sau patologice și topografia lor.

Un alt studiu efectuat se referă la principalii indici ai reproducției precum fecunditatea (F), natalitatea (N), service periodul (SP), calving intervalul (CI) ce influențează direct ritmul de creștere al efectivului de bubaline.

6.2. Rezultate și discuții

6.2.1. Evoluția în dinamică a volumului ovarian, în cadrul ciclului sexual la bivoliță

Pentru monitorizarea procesului de reproducție s-au efectuat examene clinice periodice, rezultatul acestora au fost centralizate pe sezoane și pe ani.

Examinarea transrectală a fost efectuată periodic în fermă, pe tot parcursul anului, și au interesat multiparele, primiparele și nuliparele (vițele de peste 20 de luni). Trebuie specificat faptul că odată diagnosticată gestația, nu au mai fost efectuate examene transrectale pentru stabilirea dimensiunii ovarelor și identificării formațiunilor.

Dinamica dimensiunii ovarelor din acest studiu este reprezentată de mediile volumului ovarelor doar de la bivolițele aflate în perioada de așteptare.

Examenul ginecologic intern, transrectal, la bivoliță se realizează diferit raportat la vacă, datorită particularităților anatomoclinice și topografice ale aparatului genital (fig. 6.1). La bivoliță crupa este teșită, cu deschiderea posterioară a bazinului mult orientată ventral, fapt ceea ce duce la o poziționare ascendentă a brațului examinatorului în conductul pelvigenital.

Musculatura ano-rectală este mai dezvoltată și mai tonică comparativ cu taurinele, și contractiile de defecație și ale unde peristaltice sunt foarte intense ceea ce determină ca abordarea segmentelor uterine și a ovarelor să fie foarte anevoioasă și uneori imposibilă.

La bivolițe, pe seroasele din cavitatea pelvină (rectală, uterină, mezoovar și mezouter) se depun frecvent grăsimi, în cantitate proporțională cu scorul corporal, fapt ce face ca grosimea peretelui rectal să estompeze din fidelitatea identificării și palpării segmentelor interesate.

Topografia uterului la bivolițe este fiziologic pe planseul cavității pelvine, iar forma acestuia este a coarnelor de berbec, peretele uterin este mai gros ca la vacă și cu o tonicitate crescută, devine rapid hipertonic și hiperchinet. Frecvent, în timpul examenului transrectal, din cauza hipertonicității și a hiperkineziei uterului ia aspectul unei mase globuloase, torsionată, cu coarnele uterine răsucite mult ventral, făcând ca abordarea ovarelor să fie foarte dificilă.

Uneori, pentru a reuși examinarea ginecologică se recurge la o ușoară anestezie epidurală cu procaina 2%, doza acesteia fiind de 2 - 3 ml la vițele și de 4 - 5 ml la adulte.

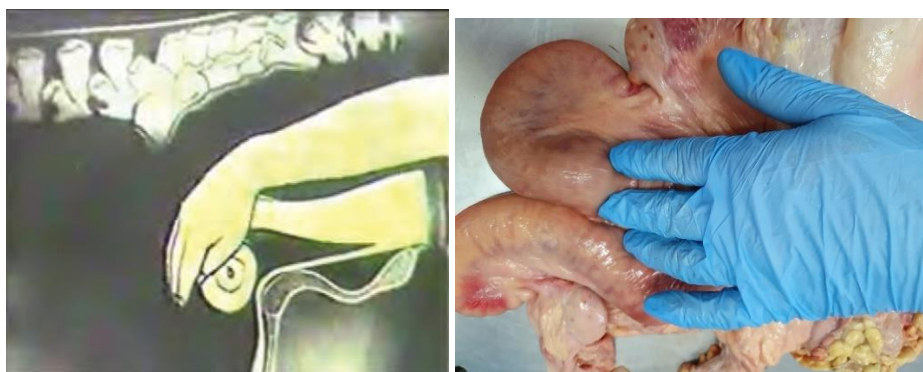


Fig. 6.1 Examinarea trans-rectală la bivolițe. Poziția mâinii operatorului și examenul ginecologic al uterului și ovarelor de bivoliță (Ciornei, ș.a., 2020.)

Fig. 6.1 Transrectal examination in buffaloes. The position of the operator's hand and the gynecological examination of the uterus and ovaries in buffalo (Ciornei, ș.a., 2020)

În anul 2016 s-a monitorizat activitatea de reproducție la 77 bivolițe, cu un număr total de examinări de 219. S-a urmărit determinarea, prin examenare trans-rectală a dimensiunilor ovarelor, respectiv lungime și lățime (morfometrie trans-rectală), a și prezența formațiunilor pe ovar.

Pentru examinarea ginecologică a uterului și a ovarelor la bivoliță este nevoie de experiență din partea operatorului, dar și de cunoașterea particularităților la această specie. Determinarea cu precizie a dimensiunilor s-a făcut după un studiu individual privind aplicarea semiologiei ginecologice. Astfel, conform lui Hansen Ch. 2006, au fost adoptate rapoartele morfometrice și de reper ale segmentelor genitale examinate cu dimensiunile cunoscute ale operatorului.

Aprecierea morfometrică a ovarelor s-a făcut prin comparație cu lungimea și lățimea degetului mare (police) și arătător (indice), dar și cu diametrul spațiului creat de închiderea celor două degete.

După Hansen Ch. 2006 diametrul degetului mare la nivelul amprenteii este de 2,5 – 3 cm, lungimea falangei distale a degetului mare este de 3 – 3,5 cm. Lungimea degetului arătător este de 10 cm, spațiul creat prin unirea

degetului mare și a degetului arătător este de 4,5 – 5 cm, iar dacă spațiul se închide la baza falangei distale, are diametrul de 3 – 3,5 cm în diametru. Conform metodei de dimensionare, s-au stabilit reperele proprii ale examinatorului din studiu (tabelul 6.1).

Tabelul 6.1

Elemente de morfometrie și semiologie ginecologică necesare pentru aprecierea dimensiunilor ovariene și genitale

Table 6.1

Elements of morphometry and gynecological semiology necessary for the assessment of ovarian and genital dimensions

Nr. Crt.	Elemente de morfometrie	Literatură (cm)	Propriu (cm)
1.	Lățimea degetului mare la nivelul amprenteii	2,5 – 3	2,3
2.	Lungimea falangei distale a degetului mare	3 – 3,5	3,3
3.	Lungimea degetului arătător	10	8,5
4.	Lățimea degetului arătător la nivelul amprenteii	2	1,8
5.	Diametru spațiu închis indice - police	4,5 – 5	4
6.	Diametru spațiu închis indice – baza falangă distală	3 – 3,5	3

Datele au fost centralizate pe luni și pe sezoane de climă, raportându-se doar media acestora (tabelul 6.2, fig. 6.2). Lungimea ovarului stâng a avut valori medii cuprinse între 14,8 mm (iarnă) și 15,4 mm (vară) respectiv lățime de 10,6 mm (primăvara) și 12 mm (vară). De asemenea, lungimea ovarului drept a avut valori medii cuprinse între 15,7 mm (iarnă) și 19,3 mm (vară) respectiv lățime de 11,3 mm (iarnă) și 15,5 mm (vară). Se observă că dimensiunile medii cele mai mari s-au înregistrat în sezonul de vară ca o consecință a formațiunilor evolutive existente pe ovar, fie datorate prezenței unui CL gestativ sau a foliculilor ovarieni în diferite stadii de dezvoltare.

Tabelul 6.2

Dimensiuni medii ovare bivoliță, în funcție de sezon, anul 2016

Table 6.2

Average dimensions of buffalo ovaries, depending on the season, 2016

ORGAN	DIMENSIUNI	ANOTIMP			
		IARNĂ	PRIMĂVARĂ	VARĂ	TOAMNĂ
OVAR STÂNG	LUNGIME / mm	14,8	14,7	15,4	15,5
	LĂȚIME / mm	10,8	10,6	12,0	11,2
OVAR DREPT	LUNGIME / mm	15,7	18,3	19,3	17,4
	LĂȚIME / mm	11,3	13,1	15,5	12,9

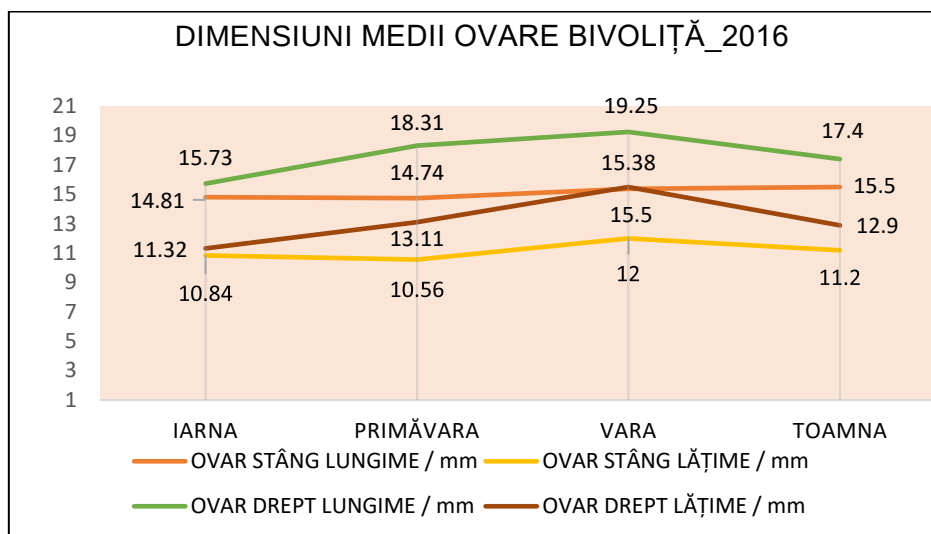


Fig.6.2 Reprezentare grafică dimensiuni medii ovare bivoliță, în funcție de sezon, anul 2016
 Fig.6.2 Graphic representation of average dimensions of buffalo ovaries, depending on the season, year 2016

Monitorizarea activității de reproducție în anul 2017 s-a efectuat pe un efectiv de 48 bivolițe primipare și multipare, efectuându-se un număr de 70 de examinări trans-rectale (tabelul 6.3, fig. 6.3). S-a constatat că lungimea ovarului stâng a avut valori medii cuprinse între 10 mm (iarna) și 21,3 mm (primăvara), respectiv lățime de 5 mm (iarna) și 15,7 mm (primăvara). De asemenea, lungimea ovarului drept a avut valori medii cuprinse între 14,7 mm (iarna) și 18,1 mm (vara) respectiv lățime de 10,6 mm (iarna) și 11,67 mm (primăvara).

Dinamica evolutivă a dimensiunilor medii ale ovarelor în anul 2017 este relativ asemănătoare cu cea din 2016, activitatea ovariană mai intensă înregistrându-se în sezonul cald.

Singura deosebire este că în anul 2017 dimensiunile medii ale ovarului stâng sunt mai mari cu 3,5 mm în lungimea ovarului și respectiv, 2,5 mm în lățimea ovarului comparînd determinările din 2016 pentru același ovar (fig. 6.4).

În urma examinărilor repetate ale bivolițelor aflate în puerperium târziu (mai mult de 40 de zile) și la înțarcare s-a efectuat monitorizarea prin metode de semiologie ginecologice mărimea ovarelor și diagnosticul fazei ciclului sexual. Bivolițele care au fost diagnosticate gestante, nu au mai fost examinate și au fost eliminate din lot.

Tabelul 6.3

Dimensiuni medii ovare bivoliță, în funcție de sezon, anul 2017

Table 6.3

Average dimensions of buffalo ovaries, depending on the season, 2017

ORGAN	DIMENSIUNI	ANOTIMP			
		IARNĂ	PRIMĂVARĂ	VARĂ	TOAMNĂ
OVAR STÂNG	LUNGIME / mm	14,5	21,3	20,3	10,0
	LĂȚIME / mm	9,5	15,7	15,1	5,0
OVAR DREPT	LUNGIME / mm	14,7	17,0	18,1	17,5
	LĂȚIME / mm	10,6	11,7	12,9	12,5

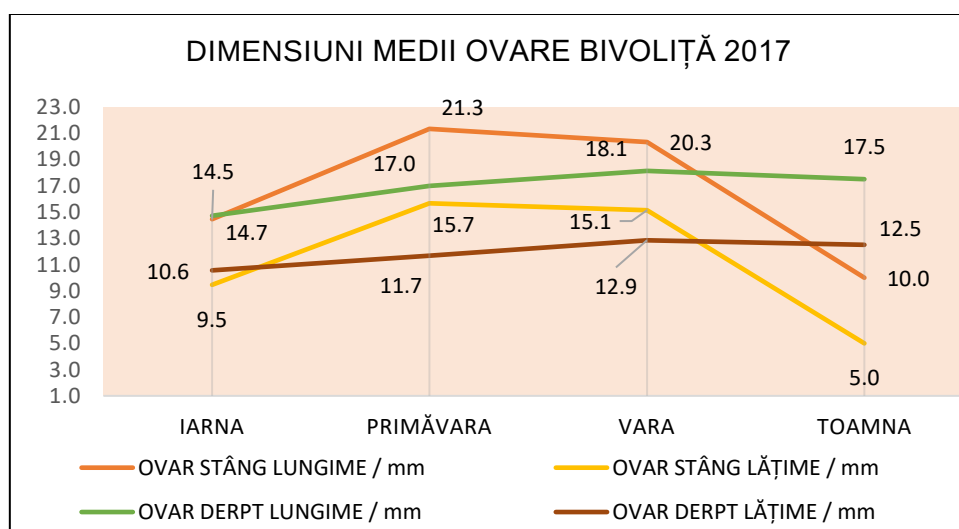


Fig.6.3 Reprezentare grafică dimensiuni medii ovare bivoliță, în funcție de sezon, anul 2017

Fig.6.3 Graphic representation of average dimensions of buffalo ovaries, depending on the season, year 2017

În condițiile creșterii și exploatării bivolițelor în ferma Terra di Bufala s-a constatat că dinamica volumului (dimensiunilor) ovarian a variat între 0,5 și 2,5 cm.

Dimensiunile cele mai mici ale ovarelor au corespuns cu faza de inactivitate ovariană, iar în cazurile în care s-au diagnosticat dimensiuni mai mari ale ovarelor, acestea au corespuns cu faza de activitate ovariană, în special cu faza de foliculogeneză terminală și viața corpului luteal.

De remarcat este că ovarele de bivoliță, indiferent de momentul de examinare, au o evoluție rapidă în dezvoltare. Astfel, s-a constatat că doar în câteva zile (interval de la o examinare la alta) ovarul își dublează volumul acolo unde este o activitate ovariană.

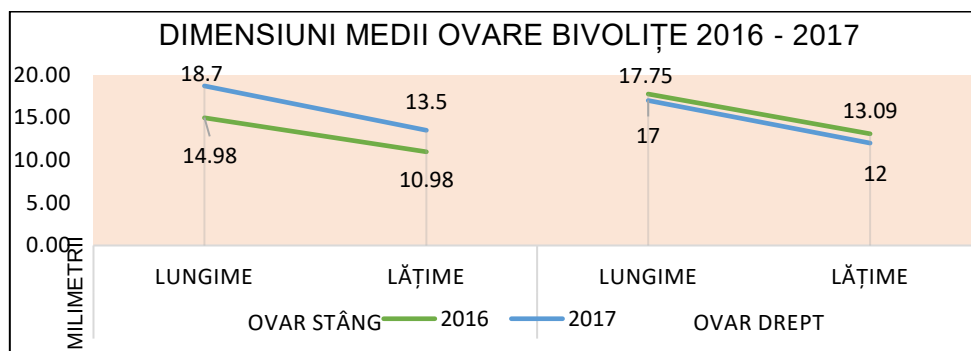


Fig. 6.4. Reprezentare grafică dimensiuni medii ovare bivoliță anii 2016 - 2017

Fig. 6.4. Graphic representation of medium size buffalo ovaries 2016 – 2017

În condițiile de creștere, de alimentație, de exploatare a bivolițelor în ferma Terra di Bufala și a terapiei neuroreflexe indusă de examinările transrectale repetate, dublată de intervenții terapeutice hormonale specifice pentru inducerea estrului s-a observat o creștere a volumului ovarelor în lunile de primăvară, cu o ușoară scădere a dimensiunilor acestora în lunile de vară. În anotimpul rece (toamnă - iarnă) valorile medii ale volumului ovarelor au fost mai mici.

6.2.2. Sezonalitatea ciclului sexual la bivolițe și desfășurarea estrului

Importanța duratei de zi lumină în reproducerea sezonieră este bine documentată. Melatonina acționează asupra glandei pineale prin dezinhibarea secreției active a hormonului luteinizant (LH) care, împreună cu hormonul foliculostimulator (FSH), controlează secreția de estradiol. Cu toate acestea, creșterea zi lumină mărește sensibilitatea hipotamusului, generând un mecanism de feedback care scade eliberarea de LH. Aceasta înseamnă că nu există suficient estradiol pentru a stimula ovulația la mamifere (Sanchez ș.a., 2017).

În comparație cu bovinele, bubalinele prezintă pubertate întârziată atât la masculi, cât și la femele, o exprimare slabă a estrului la majoritatea bivolițelor, un estru postpartum întârziat și perioade între fătări prelungite. Bivolițele multipare au, în mod intrinsec, o zestre mai mică de foliculi primordiali în ovare și evidențiază două trei valuri de creștere foliculară în timpul ciclului estral. Estrul persistă timp de 24 - 36 de ore și ovulația apare la 24 - 48 de ore după debutul estrului (Awasthi 2013, Runceanu ș.a., 2016).

Bovinele și bubalinele par a fi similare în anatomia tractului reproductiv la ambele sexe, dar unele diferențe, cum ar fi un cervix mai îngust, dimensiuni ovariene și testiculare mai mici și glande anexe mai reduse, fac ca specia să

fie ușor diferită de bovine. (Tonizza de Carvalho ș.a., 2014).

Vârsta la care estrul este detectat pentru prima dată este denumită pubertate. Bivolitele juninci ating pubertatea la vârsta de 24 - 30 luni și la 225 - 275 kg greutate corporală, adică atunci când animalele ating 55 - 60% din greutatea corporală a unui adult, dar sunt și excepții, de exemplu bivoliile de mlaștină ating pubertatea la 21 - 24 luni. Ajungerea la pubertate este mai mult legată de greutatea corporală decât de vârstă. Cu toate acestea, genotipul, nutriția, managementul, sezonul de fătare, factorii climatici, apariția bolilor și prezența sau absența unui mascul matur pot influența vârsta la pubertate (Awasthi, 2013).

Studiind sezonalitatea ciclului sexual la bivolițe au fost monitorizate ca material biologic, un total de 65 de bivolițe, pe parcursul anului 2016, cu privire la calendarul apariției estrului, semnele clinice estrale și durata acestuia. Materialul biologic a fost reprezentat de bivolițe din cadrul fermei Terra di Bufala. Detectarea estrului a fost efectuată prin metode clinice, în timp ce bivolițele au fost stimulate pentru apariția estrului prin utilizarea bivolului malac.

Modul de apariție al estrului și manifestările sale au fost grupate pe anotimpuri. Rezultatele au arătat că la 9,23% (6 bivolițe) din efectiv nu s-au identificat semne clinice de călduri.

În ceea ce privește manifestarea clinică a fazei estrale, caracterizarea acesteia a fost slab exprimată clinic, edemul vulvar este redus, mucusul vulvar mai puțin abundent și în volum redus în comparație cu semnele estrale întâlnite la bovine. Comportamentul bivolițelor în estru a fost caracterizat prin apetit redus, o ușoară stare de agitație și curiozitate.

În funcție de anotimp, estrul spontan a fost diagnosticat în proporție de 50,8% (30 bivolițe) primăvara, 30,5% (18 bivolițe) vară, 13,6% (8 bivolițe) toamnă și 5,1% (3 bivolițe) în timpul iernii (tabelul 6.4 și fig. 6.5). Exprimarea sezonieră a estrului la bivolițe, este caracterizată de rezultatele antagoniste obținute în luna mai și luna decembrie. S-a constatat că estrul spontan în luna mai a fost diagnosticat la 28,8% (17 bivolițe) bivolițe și în decembrie nicio femelă nu a fost diagnosticată în estru. Valorile scăzute au fost observate în lunile ianuarie, noiembrie și iunie (1,69%) (tabelul 6.4).

Cercetările referitoare la apariția fazei estrale în sezonul rece (noiembrie - martie), arată că anestrul se instalează în aproximativ 90% din cazuri consecutive condițiilor climatice și de furajare. În studiul de față doar 11.9% dintre bivolițe au prezentat semne de călduri în perioada noiembrie – martie.

Tabelul 6.4

Sezonalitatea estrului spontan la bivolițe

Table 6.4

The seasonality of spontaneous estrus in buffaloes

ESTRU SPONTAN BIVOLIȚE				
ANOTIMP	LUNĂ	NUMĂR BIVOLIȚE	% LUNĂ	% SEZON
IARNA	decembrie	0	0.00	5.08
	ianuarie	1	1.69	
	februarie	2	3.39	
PRIMĂVARA	martie	3	5.08	50.85
	aprilie	10	16.95	
	mai	17	28.81	
VARA	iunie	1	1.69	30.51
	iulie	6	10.17	
	august	11	18.64	
TOAMNA	septembrie	3	5.08	13.56
	octombrie	4	6.78	
	noiembrie	1	1.69	

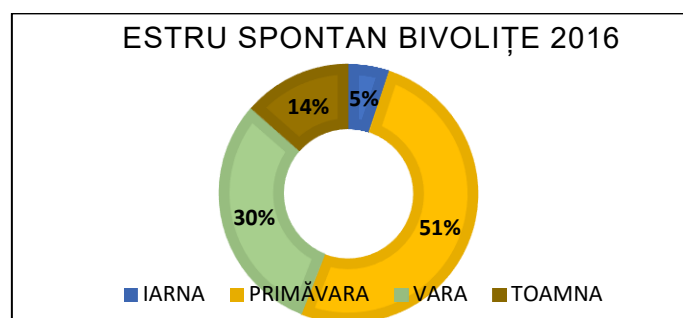


Fig. 6.5. Reprezentare grafică a estrului sezonier spontan la bivolițe, în anul 2016

Fig. 6.5 Graphic representation of spontaneous estrus in buffaloes, in 2016

Peste 80% dintre bivolițele luate în studiu au prezentat estru spontan depistat clinic în lunile de primăvară și vară. În condițiile de creștere și exploatare a bivolițelor de la ferma Terra di Bufala se conturează un sezon de activitate sexuală în lunile aprilie – august, perioadă care corespunde lunilor calde din an, în care masa furajeră este mai abundentă.

Din cercetările efectuate de I. Boitor (1981) rezultă faptul că la bivolițele crescute în zonele de deal și de șes se constată un sezon de activitate sexuală în perioada de primăvară (luna aprilie) și un alt sezon în perioada de toamnă (luna septembrie), respectiv pentru bivolițele crescute în zona de munte, sezonul sexual se manifestă în lunile iunie și iulie.

Ciclul estral la bivoli este reglat de axa hipotalamo-hipofizo-gonadală constând din hipotalamus, hipofiză și ovar. Hipotalamusul produce GnRH ca răspuns la semnalele neuro-endocrine și steroizi circulanți. GnRH are o acțiune

trofică asupra hipofizei care stimulează producția de gonadotropine; FSH și LH. Acești hormoni stimulează dezvoltarea foliculilor ovarieni și ovulația. În plus, după ovulație, foliculul se transformă pentru a forma corpul luteal (CL) sub influența LH. CL este responsabil de producția de progesteron la animalele ciclice și cele gestante. Principalii hormoni produși de ovar sunt estrogenul și progesteronul, în plus față de alți hormoni locali.

Mulți autori (Taneja, 1996, Baruselli, 1997, Manik, 2002, Awasthi, 2013) au arătat că bivolițele au avut două și trei valuri foliculare în timpul unui ciclu estral. În fiecare val de creștere foliculară, un folicul dominant se dezvoltă și suprimă dezvoltarea celorlalți foliculi. Foliculul dominant crește și atinge diametrul maxim în mijlocul fazei estrale.

Semnul cel mai clar definit al acestui model ritmic este estrusul, o perioadă de receptivitate sexuală, care revine la fiecare 21 de zile (cu un interval cuprins între 19 - 23 zile). În general, ciclul estral poate fi împărțit în patru faze: proestru (3 zile), estru (24 ore), metestru (3 - 4 zile) și diestru (12 - 15 zile). La nivelul bivoliilor de râu, estrul durează în medie 24 ore (10 - 48 ore), comparativ cu o perioadă mai scurtă de timp la bivoliile de baltă ($19,9 \pm 4$ ore). Femela acceptă masculul pentru împerechere în această perioadă. În timpul estrului, un ovul se maturează în foliculul ovarian sub influența LH și ovulează aproximativ la 11 ore după dispariția semnelor clinice de estru la bivoliile de râu și la 13,9 ore la bivoliile de mlaștină.

Semnele de estru la bubaline sunt mai puțin vizibile decât la bovine (Singht și Adams, 2000), comportamentul de salt pe alte femele între femele este rareori văzut. Principalele semne comportamentale sunt neliniștea, muget frecvent, ridicarea cozii, tumefierea vulvei, scăderea consumului de hrană și micțiuni frecvente.

În timpul verii, estrul apare clinic numai în timpul nopții sau în primele ore ale dimineții. Estru șters este obișnuit în timpul lunilor de vară. Semnele de estrus sunt însoțite de edemațierea vulvei, înroșirea mucoasei vestibulare și a modificărilor genitale interne, cum ar fi tonusul uterin și contractilitatea coarnelor uterine. Datorită edemului vulvar, ridurile longitudinale care sunt prezente pe labiile vulvare dispar la femela în estru. Secreția mucusului din colul uterin în timpul estrului este mai puțin abundentă decât la bovine și, de obicei, nu are aspect filant, deși o parte din bivolițe pot prezenta mucus, dar poate fi eliminat prin examinarea trans-rectală a organelor genitale.

6.2.3. Indicii de reproducție utilizați la bivolițe

Perioada de serviciu sau "service – period" (SP) - pentru bivolițele multipare, acest indice de reproducție reprezintă intervalul în zile de la parturiție și până la data primei monte fecunde, respectiv instalarea gestației, iar pentru

primipare, intervalul în luni de la fătare până la monta fecundă. Aceasta poate varia între 80 – 295 zile, cu valori medii cuprinse între 100 – 140 zile.

În condițiile țării noastre service periodul calculat pentru bivolițe este în medie de $129,75 \pm 1,76$ zile (Livia Vidu și Bota, 2014).

Intervalul mediu dintre parturiții "Calving Interval"(CI) - acest indice de reproducție se poate calcula numai la bivolițele care au fătat de cel puțin două ori și se exprimă în cifre absolute. Calving Interval variază între 350 – 800 zile, cu o medie de 553 de zile la bivolul de baltă și o variație între 334 – 580 zile, cu o medie de 465 de zile la bivolul riveran. V. Creța (1986) a stabilit media CI de 421 zile, iar L. Elisei (1996) de 451,78 zile. O bivoliță poate produce un vițel pe an numai în anumite condiții.

La ferma de bivolițe de la Razboieni s-au calculat pentru perioada 2016 – 2017 SP și CI (tabelul 6.5). Intervalul mediu dintre fătare și prima montă fecundă a fost de 140 de zile, cu variații cuprinse între 70 și 350 de zile. Intervalul mediu dintre fătări a fost de 547 zile, cu variații între 380 și 980 de zile.

Tabelul 6.5

Principalii indici de reproducție la bivolițe, în condiții naturale de creștere în anii 2016 – 2017 în ferma de la Razboieni, județ Iași

Table 6.5

The main reproduction indicators for buffalo cows, in natural growth conditions in the years 2016 - 2017 in the farm from Razboieni, Iași county

Date și indici de reproducție	Medie	Limite Variatii (-)	Limite Variatii (+)
Vârsta bivolițelor la pubertate (luni)	13	12	16
Vârsta la maturitatea sexuală, - recomandată pentru reproducție (luni)	20	18	30
Vârsta la prima parturiție (luni)	36	32	65
Primul estru după fătare (zile)	95	45	330
Durata gestației (zile)	315	310	330
Calving interval (zile)	547	380	980
Service Preiod (zile)	140	70	350

Indicii de reproducție la bivolițele din ferma de la Razboieni sunt foarte apropiați de cei din literatura de speialitate. În mod normal, într-o ferma nou înființată și cu personal fără prea mare experiență, principalii indici de reproducție sunt inferiori. Avantajul fermierului și explicația rezultatelor este legată și de activitatea de cercetare derulată în acea perioadă, în special pentru morfometria uterină și diagnosticul și terapia patologiei genitale.

Aceiași indici au fost calculați și pentru ferma de bivolițe de la Șercaia (tabelul 6.6). Intervalul mediu dintre fătare și prima montă fecundă a fost de 140,2 de zile, cu variații cuprinse între 80 și 389 zile. Intervalul mediu dintre fătări a fost de 443,2 zile, cu variații între 318 și 734 zile.

Tabelul 6.6

Evoluția SP și a CI la bivolițele de la SCDCB Șercaia, în anii 2018 – 2019

Table 6.6

SP and CI for buffalo cows from SCDCB Șercaia, in the years 2018 – 2019

Indici de reproducție	Medie	Limite Variatii (-)	Limite Variatii (+)
Calving interval (zile)	443,2	318	734
Service Preiod (zile)	140,2	80	389

6.3. Concluzii parțiale

1. Activitatea ovarienă mai intensă se înregistrează în sezonul cald. Există diferențele de dimensiuni între ovarul drept și stâng și sunt influențate de nutriție și sezon. Media aritmetică a dimensiunilor ovarelor la bivoliță: ovar drept 17,8 mm lungime, iar ovarul stâng 15 mm lungime (anul 2016).

2. Pubertatea la bivolițe apare în medie la 13 luni, cu limite cuprinse între 12 și 16 luni. Vârsta la prima parturiție este în medie de 36 luni, cu limite cuprinse între 32 și 65 luni.

3. Primul estru după fătare apare în medie după 95 de zile, cu limite cuprinse între 54 și 330 luni. Durata gestației este în medie de 310 zile, cu limite cuprinse între 300 și 330 zile.

4. Calving intervalul a fost de 547 zile, cu limite cuprinse între 380 și 980 zile pentru ferma de la Razboieni și 443,2 zile, cu limite cuprinse între 318 și 870 zile pentru ferma de la Șercaia. Service Preiodul a fost de 140 zile, cu limite cuprinse între 70 și 350 zile pentru ferma de la Războieni și 140,2 zile, cu limite cuprinse între 80 și 389 zile pentru ferma de la Șercaia.

5. În sezonul de iarnă (noiembrie - martie) anestrul s-a instalat la aproximativ 88% din efectivul de bivolițe. Estrusul spontan în luna mai a fost diagnosticat la 28,8% bivolițe, iar în decembrie nicio femelă nu a fost depistată în estru. Valorile scăzute au fost observate în lunile ianuarie, noiembrie și august.

6. 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.

7. CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL INCIDENȚA ȘI TERAPIA AFECȚIUNILOR GINECOLOGICE LA BIVOLIȚE

7. RESEARCH ON THE DIAGNOSIS INCIDENCE AND TREATMENT OF THE BUFFALOE'S GYNECOLOGICAL DISEASES

Afecțiunile genitale, în marea lor majoritate, au un impact negativ asupra reproducției, ceea ce contravine obiectivelor creșterii animalelor de rentă. Aceste afecțiuni pot fi ținute sub control prin condițiile de creștere, alimentație, examinare individuală, diagnostic și tratament.

7.1. Material și metodă

Studiul acestui capitol s-a bazat pe diagnosticul afecțiunilor ginecologice în două ferme de bubaline, Ferma I situată în județul Iași, localitatea Razboieni și Ferma II, Stațiunea de Cercetare Dezvoltare pentru Creșterea Bubalinelor din județul Brașov, localitatea Șercaia.

Multitudinea de elemente ce pot determina fenomenul de anafrodizie și patologiile care îl preced cuprind factori de ordin ereditar, bacterian, micotic, metabolic și nu în cele din urmă hormonal.

La ferma I, în perioada studiată (anii 2016 – 2017) au fost înregistrate la bivolițe un număr de 100 fătări (tabelul 7.1), cele mai multe realizându-se în anul 2017, 66 % (66 fătări).

Fătările au fost distribuite pe toată perioada anului, dar în anul 2017 cele mai multe au fost grupate în intervalul de timp martie – mai, respectiv 31 fătări reprezentând un procent de 47 % (fig. 7.1).

Pe parcursul celor doi ani s-au produs 24 de fătări distocice (45,8 % în 2016 și 54,2 % în 2017), distociile fiind din diverse cauze: distocii în prezentare anterioară (75 %), cu reținere membre anterioare și distocii cu reținerea capului, distocii în prezentare posterioară 16,7 %, și distocii datorate monstruozițiilor 8,3 %.

În anii de studiu, 2016 – 2017 la Ferma I și respectiv 2017 – 2018 la Ferma II au fost diagnosticate 73 cazuri de afecțiuni ale aparatului genital (Ferma I) - chiști foliculari, chiști luteinici, hipotrofii ovariene, prolaps uterin, retenții placentare și 88 cazuri de afecțiuni ginecologice la Ferma II (corp luteal persistent, hipotrofii ovariene, endometrite, prolaps uterin, retenții placentare) (tabelul 7.2 și tabelul 7.3, fig. 7.2 și fig. 7.3).

Tabelul 7.1

Parturiții înregistrate la bivolite, la Ferma I, în anii 2016 – 2017

Table 7.1

Calvations registered at buffalo cows, at Farm I, in the years 2016 – 2017

LUNILE ANULUI	2016		2017	
	Număr	%	Număr	%
IANUARIE	5	14.71	6	9.09
FEBRUARIE	1	2.94	3	4.55
MARTIE	4	11.76	8	12.12
APRILIE	2	5.88	15	22.73
MAI	1	2.94	8	12.12
IUNIE	2	5.88	4	6.06
IULIE	3	8.82	4	6.06
AUGUST	2	5.88	1	1.52
SEPTEMBRIE	1	2.94	2	3.03
OCTOMBRIE	1	2.94	4	6.06
NOIEMBRIE	7	20.59	8	12.12
DECEMBRIE	5	14.71	3	4.55
TOTAL	34	100.00	66	100.00
TOTAL GENERAL	100			

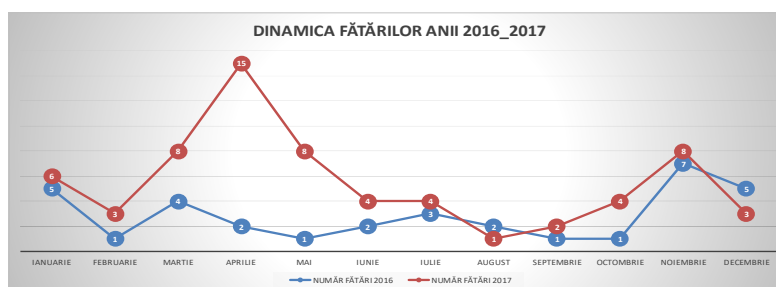


Fig. 7.1. Dinamica parturițiilor la Ferma I, perioada 2016 – 2017

Fig. 7.1. The dynamics of calving at Farm I, period 2016 - 2017

Tabelul 7.2

Afecțiunile ginecologice diagnosticate la bivolite în Ferma I în anii 2016 și 2017

Table 7.2

Gynecological diseases in buffalo cows in Farm I in 2016 and 2017

AFECȚIUNI GENITALE	IANUARIE		FEBRUARIE		MARTIE		APRILIE		MAI		IUNIE		IULIE		AUGUST		SEPTEMBRIE		OCTOMBRIE		NOIEMBRIE		DECEMBRIE		NR. TOTAL 2016	NR. TOTAL 2017	NR. TOTAL	
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2016	2017				
AF. OV. - CHISTI FOLICULARI							1				2	2													3	2	5	
AF. OV. - CHISTI LUTENICI	1			1			1							1							1				3	2	5	
HIPOTROFII OVARIENE	2	1	1				2	1													2	2	1	1	9	5	14	
PROLAPS UTERIN					1			1	1													1	1		2	3	5	
DISTOCHII	2	1	1	1	2	2	1	3	1			1		1	1					1	1	2	2	1	11	13	24	
RETENȚII PLACENTARE	1	1		1	1	2	1	3	2											1	2	1	2	1	7	12	19	
TORSIUNE UTERINA				1																					1	0	1	
NR. TOTAL AFECȚIUNI 2016	6	3	3		5		6		0		2		1		1		0		0		6		6		36			
NR. TOTAL AFECȚIUNI 2017		3		3		4		8		4		2		1		1		0		2		6		3		37		73
NR. TOTAL AFECȚIUNI		9		6		9		14		4		4		2		2		0		2		12		9		73		

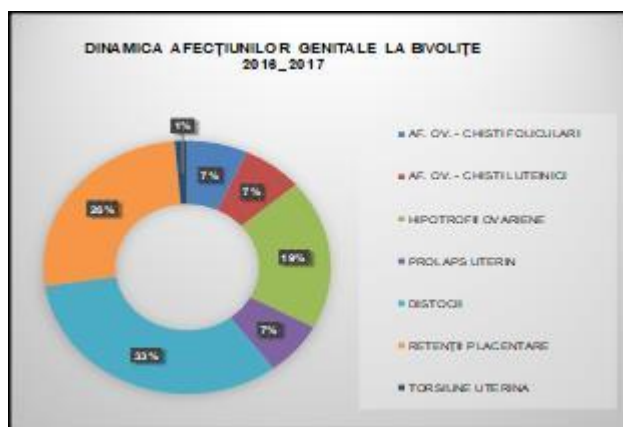


Fig. 7.2 Dinamica afecțiunilor ginecologice la bivolițe în Ferma I în anii 2016 și 2017
Fig. 7.2 Dynamics of gynecological diseases in buffalo cows in Farm I in 2016 and 2017

Tabelul 7.3

Afecțiuni ginecologice la bivolițe în Ferma II în anii 2017 și 2018

Table 7.3

Gynecological diseases in buffaloes in Farm II in 2017 and 2018

AFECȚIUNI GENITALE	IANUARIE		FEBRUARIE		MARTIE		APRILIE		MAI		IUNIE		IULIE		AUGUST		SEPTEMBRE		OCTOMBRIE		NOIEMBRIE		DECEMBRE		NR. TOTAL 2017	NR. TOTAL 2018	NR. TOTAL	
	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018	2017	2018		
CORP LUTEAL PERSISTENT	2	1			5	7																	4	2	11	10	21	
HIPOTROFII OVARIENE		4	2	3																4	4					6	11	17
ENDOMETRITE					1	1	2	4	4	6						2		1								7	14	21
PROLAPS UTERIN					1								1	2		1										2	3	5
DISTOCII					1				1	1																2	1	3
RETENȚII PLACENTARE					1		2	4	4	6						2		1								7	13	20
TORSIUNE UTERINA							1																			1	0	1
NR. TOTAL AFECȚIUNI 2017	2		2		9		5		9		0		1		0		0		0		4		4		36			88
NR. TOTAL AFECȚIUNI 2018		5		3		8		9		12		0		2		5		2		0		4		2		52		
NR. TOTAL AFECȚIUNI	7		5		17		14		21		0		3		5		2		0		8		6		88			

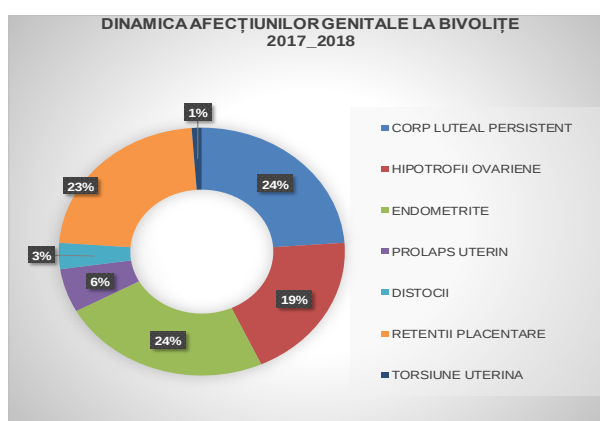


Fig. 7.3 Dinamica afecțiunilor ginecologice la bivolițe în Ferma II în anii 2017 și 2018
Fig. 7.3 Dynamics of gynecological diseases in buffaloes in Farm II in 2017 and 2018

7.2. Rezultate și discuții

7.2.1. Diagnosticul incidența și tratamentul tulburărilor trofice ovariene

Absența estrului la bivoliță este cel mai des cauzată de hipotrofiile ovariene.

Hipotrofia ovariană a fost observată la bivolițe destul de frecvent, mai ales în sezonul rece, din noiembrie până în martie (Ferma I 19,18% și Ferma II 19,32% cazuri în cei doi ani luți în studiu), fiind cauza cea mai frecventă a absenței estrului la bubaline, în perioada de iarnă, dependent de caracterul sezonier al reproducției la bubaline. Trebuie specificat faptul că în ambele ferme s-a practicat monta liberă (întreținerea bivolițelor la pășune în sezonul cald).

Pentru stabilirea diagnosticului de hipotrofie ovariană a fost întocmit un protocol de lucru după cum urmează:

- ☐ Consultarea evidențelor zootehnice;
- ☐ Efectuarea anchetei ginecologice (anamneza);
- ☐ Examinarea ginecologică transrectală a ovarelor;
- ☐ Reexaminarea acestora la un anumit interval de timp;
- ☐ Examinarea ecografică a ovarelor.

În urma consultațiilor evidențelor zootehnice a fost stabilită vârsta vacilor, numărul de parturiții, producția de lapte, alte afecțiuni ginecologice avute, ce tratamente au fost efectuate, data apariției estrului după terapie și montă / IA fecundă (fig.7.3).

Anamneza, ca parte a anchetei ginecologice, a stabilit date referitoare la manifestarea ciclicității sexuale a bivolițelor luate în studiu. Astfel, a fost stabilită data ultimului estru, dacă a fost efectuată monta, dacă ciclu sexual este regulat sau nu, cum au fost semnele estrale ca exprimare clinică.

Prin examinare ginecologică transrectală au fost examinate ovarele cărora li s-au stabilit câteva repere ca: mărimea (lungimea și lățimea în cm), aspectul (aplatizat, globulos), consistența (elastică, fermă) și reperarea formațiunilor dezvoltate pe ovare (foliculi și corpi luteali).

La palpația transrectală a ovarelor cu hipotrofie de gradul I, s-au constatat ovare mici, dense, lipsite de formațiuni de suprafață, foliculi, corpi luteali, iar căile genitale sunt hipotrofice. Ecografic s-a observat o formațiune hiperecogenă, bine circumscrisă, ovoidală, cu dimensiuni cuprinse între 0,8 și 1,8 cm, uneori cu prezența unei pete mici, anecogene, care reprezintă un folicul atrezic (fig. 7.5). Uterul a fost micșorat în volum, flasc, sau cu un tonus abia perceptibil, iar cervixul a fost mic, dens, ușor hiperecogen.

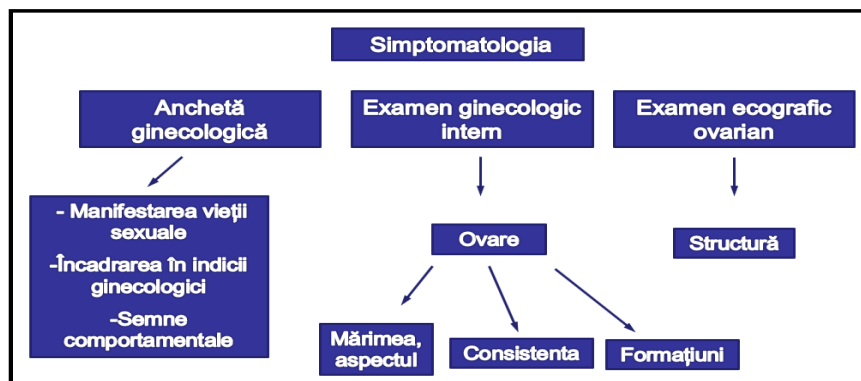


Fig.7.4 Protocol de diagnosticare al hipotrofiilor ovariene la bivoliță
Fig.7.4 Diagnostic protocol for ovarian hypotrophy in cow buffalo



Fig. 7.5 Hipotrofie ovariană de gradul I
Fig. 7.5 Grade I ovarian hypotrophy



Fig. 7.6 Hipotrofie ovariană de gradul II
Fig. 7.6 Grade II ovarian hypotrophy

Pentru precizarea diagnosticului pe cale transrectală, au fost necesare mai multe examene, care au permis diferențierea față de hipoplazia ovariană congenitală.

Din totalul afecțiunilor ginecologice întâlnite la bivolițe pe parcursul celor doi ani luați în studiu, s-a scos în evidență faptul că, hipotrofiile ovariene au reprezentat 19,17%, procent pentru Ferma I și 19,32% la Ferma II (fig. 7.2 și fig. 7.3).

La Ferma I, în anul 2016 au fost diagnosticate 9 cazuri de hipotrofii ovariene reprezentând 25% din totalul afecțiunilor întâlnite la bivolițe, iar în anul 2017 au fost 5 cazuri (13%) din totalul de 37 de afecțiuni ginecologice diagnosticate.

La Ferma II, în anul 2017 hipotrofiile ovariene au reprezentat 16,67% (6 cazuri) din totalul afecțiunilor genitale diagnosticate la bivolițele luate în studiu, anul 2018 a adus o creștere a numărului de afecțiuni ale ovarelor reprezentate de hipotrofii la 11 cazuri (21,15%).

Perioada în care s-au diagnosticat hipotrofiile ovariene la bivolițele din cele două ferme a fost anotimpul rece, respectiv lunile noiembrie – aprilie pentru Ferma I și lunile noiembrie – februarie la Ferma II.

Tomai G, (2015) susține ca absența estrului la bivolițele crescute în sistem tradițional din zona Lăpuș, Maramureș a fost determinată în proporție de 87,26 % de hipotrofii ovariene.

Tratamentul hipotrofiei de gradul I (practicat în Ferma I, 6 cazuri în cei doi ani studiați), a vizat îmbunătățirea rației, terapia neuro-reflexă și tratament specific hormonal (fig. 7.7). Rația administrată pe parcursul tratamentului a conținut furaje ușor digestibile administrate la discreție cu suplimente de vitamine și minerale. Luând în considerare că hipotrofia ovariană de gradul I se caracterizează printr-un deficit de hormoni gonadotropi hipofizari, în special de FSH, prin suplimentarea și îmbunătățirea rației furajere, adenohipofiza va putea secreta titru normal de hormoni gonadotropi, dat fiind faptul că aceștia sunt hormoni glicoprotidici.

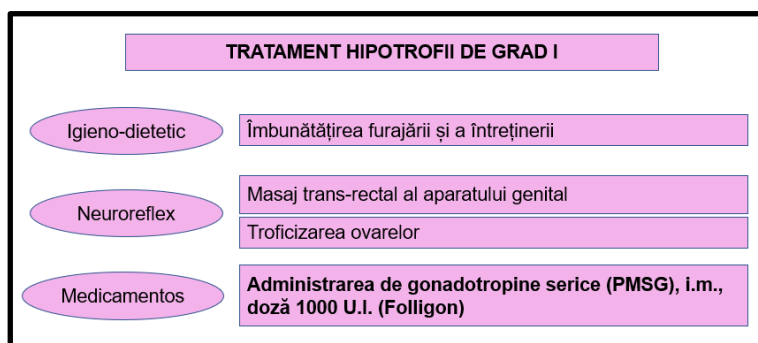


Fig. 7.7 Schema terapeutică aplicată pentru tratamentul hipotrofiei de gradul I

Fig. 7.7 Therapeutic scheme applied for the treatment of grade I hypotrophy

Terapia neuro- reflexă a constat în efectuarea repetată la 2 - 3 zile a masajului uterin și ovarian, ceea ce duce la o congestie locală, vizând o circulație mai bună a sângelui și o îmbunătățire a metabolismului local. Aceste efecte fiziologice duc la o mai bună funcționare a tractusului genital și a funcției ovariene.

Tratamentul specific a constat în administrarea gonadotropinelor serice după 10 zile de la diagnosticare. Gonadotropina serică are efect principal de FSH, iar preparatul hormonal utilizat în fermă a fost Folligonul. Administrarea a fost efectuată în doză de 1000 UI, i.m. la 10 zile de la diagnosticare.

După tratamentul hipotrofie ovariană de gradul I, toate bivolițele au avut estru la 3 zile de la administrarea PMSG-ului. Considerăm tratamentul aplicat de succes și îl recomandăm în terapia acestor afecțiuni.

În afară de acest studiu descris, hipotrofia ovariană de grad I a mai fost diagnosticată și în alte perioade de timp la aceeași fermă (studii preliminare). Tratamentul cu PMSG a fost inițiat imediat după diagnosticarea ultrasonografică a afecțiunii, când au fost vizibili foliculi cu diametrul de 3 - 8 mm (cavitari și dominanți). După administrarea injectabilă a PMSG-ului estrul a fost observat doar la 80% din cazuri, foliculii observați ecografic fiind posibil în atrezie și tratamentul nu a generat o nouă evoluție foliculară de calitate. La bivolițe recomandăm tratamente hormonale după o perioadă de echilibrare nutrițională dublată de terapie neuroreflexă.

Tratamentul în hipotrofia de gradul II, urmărește troficizarea ovarelor și o inducere forțată a unei creșteri foliculare până la stadiul de folicul matur și ovulație. Tratamentul medicamentos a fost bazat pe o combinație dintre progesteron, prostaglandină, gonadotropină serică și corionică (tabelul 7.4).

Tabelul 7.4

Protocolul terapiei hipotrofiei ovariene de gradul II, în Ferma II

Table 7.4

Grade II ovarian hypotrophy therapy protocol in Farm II

Nr. Crt.	Formula medicamentoasă	Substanța activă	Calea de administrare / doză	Ritm de administrare
1	PRIDE DELTA	Progesteron 1,55 g	Intravaginal	9 zile
2	ESTRUMATE	PGF2α	i.m. / 2 ML	Ziua a 10-a
3	FOLLIGON	PMSG Gonadotropină serică	i.m. / 1000 UI	Ziua a 11-a
4	CHORULON	HCG Gonadotropină corionică	i.m. / 5000 UI	La estru (ziua a 12-a - a 13-a)
5	TERAPIE NEUROREFLEXĂ			O data la 2-3 zile
6	CORECTAREA NUTRIȚIEI ȘI SUPLIMENTE VITAMINO-MINERALE (BRICHETE)			Cu 10 zile înainte de tratament și în timpul acestuia

Din totalul bivolițelor cu hipotrofie de gradul II, diagnosticate în Ferma II timp de doi ani (8 cazuri, 47,06%) și tratate prin protocolul descris în tabelul 8.1, cinci dintre acestea au manifestat estru imediat, în 3 – 5 zile după tratament, iar restul au intrat în călduri după 18 zile de la tratament.

Considerăm că tratamentul hipotrofiei ovariene de gradul II a fost eficient la 62,2% din cazurile tratate care au manifestat estru imediat după tratament, iar la 37,8% din cazuri estru a aparut mai târziu, după 18 de zile. Dezavantajul a fost dat de timpul scurs până la refacerea bivolițelor și de costul aferent terapiei.

În cazul hipotrofiei de gradul III, ovarele sunt aciclice și areactive cu manifestare clinică de anafrodizie. Ținând cont de sezonalitatea bivolițelor și ca 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.

Hipotrofia de gradul III a fost considerată atrofie s-au hipoplazie ovariană și nu a fost supusă tratamentului deoarece răspunsul ovarian este slab sau inexistent.

7.2.2. Diagnosticul incidența și tratamentul tulburărilor funcționale ovariene

Tulburările funcționale ale ovarelor pot să apară fie ca urmare a deficitului sau excesului de hormoni ovarieni, fie ca răspuns al tulburărilor localizate la alte aparate și sisteme, dar cu reflex asupra ovarelor. Cele mai importante modificări endocrine apar datorită multiplelor relații care există pe de o parte, între cele două formațiuni funcționale endocrine ale ovarului - foliculul și corpul luteal și pe de altă parte, adenohipofiza și uterul (Groza și Bogdan 2009, Drugociu, 2005).

Diagnosticul și incidența corpului luteal persistent

Corpul luteal persistent (CLP) este o glandă cu secreție internă, care are o structură endocrină (secretă progesteron). Mărimea depistată pe ovar a avut un diametru de 0,5 - 1,0 cm, iar între masa ovarului și formațiune a fost sesizat un șanț de demarcație.

Diagnosticul de corp luteal persistent a fost stabilit în Ferma II la 23,86% din totalul afecțiunilor ginecologice (21 bivolițe) în perioada 2017 - 2018, în sezonul rece (lunile decembrie – martie). O cauza a apariției corpului luteal persistent în această perioadă a anului ar putea fi considerată alimentația necorespunzătoare atât din punct de vedere cantitativ cât și calitativ.

Corpul luteal a fost considerat persistent dacă nu a regresat în timp de 25 de zile păstrându-și mărimea, forma și consistența, și nu au fost decelate semene de gestație. La examenului ginecologic s-au observat mai multe indicii care au dus la stabilirea diagnosticului:

- ✓ mucoasa vaginală a avut culoare roz – pal, cu prezența unui mucus vâscos, în cantitate redusă;
- ✓ uterul a fost identificat la trecerea dintre cavitatea pelvină și cea abdominală și cu reacții slabe la masajul transrectal;
- ✓ ovarul a fost normal ca mărime (1 – 2 cm), consistență normală, la suprafață a fost identificată o formațiune ce deforma conturul ovarului cu 0,5 - 1 cm, cu o consistență buretoasă, iar la baza un șanț disjunctor (fig. 7.8).

Ecografic, corpul luteal persistent a apărut ca o formațiune bine delimitată în masa ovarului cu structura organizată și normoecogenă, (fig.7.9).

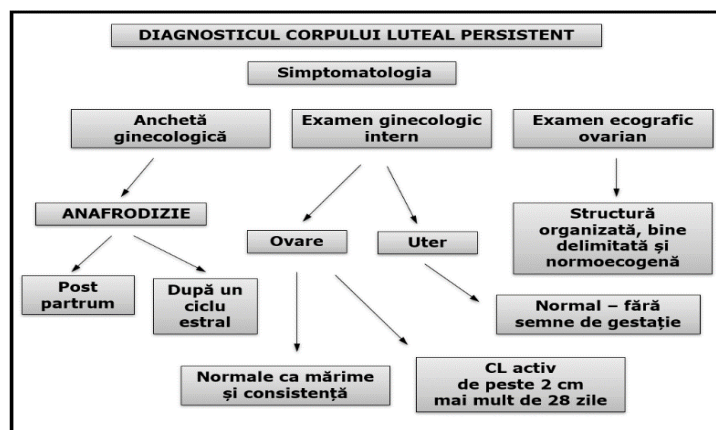


Fig.7.8 Protocol de diagnosticare al CLP la bivoliță

Fig.7.8 Diagnostic protocol of CLP to buffalo



A. Ovar de bivoliță cu structură luteală izoecogenă, 8 MHz

A. Buffalo ovary with isoechoic luteal structure, 8 MHz



B. Ovar de bivoliță cu corp luteal persistent cavitat (asemănător chistului CL), 7,5 MHz

B. Buffalo ovary with persistent cavity luteal body (similar to CL cyst), 7.5 MHz

Fig.7.9 Corp luteal persistent la bivoliță (compact și cavitat)

Fig.7.9 Persistent luteal body in buffalo cow

Astfel, dacă după prima reexaminare, consistența și mărimea corpului luteal s-au redus a fost stabilit diagnosticul de corp luteal ciclic (CLC) acesta intrând în faza de involuție. Dacă și după a doua reexaminare, mărimea, consistența și șanțul de demarcare nu au suferit modificări vizibile (nici ecografic) și nu au fost decelate semene de gestație și nici nu a fost montată bivolița anterior, a fost stabilit diagnosticul de corp luteal persistent.

Într-un studiu efectuat pe bivolițe în zona de nord-vest a României, crescute în gospodăriile populației, referitor la cauzele infertilității în sezonul cald, s-a constatat că 12,2 % dintre bivolițele examinate ultrasonografic prezentau corp luteal persistent (Tomai G., 2015). Același autor a stabilit diagnosticul de corp luteal persistent la doar 1,7 % dintre bivolițele examinate în sezonul rece pentru anestr.

Diagnosticul și incidența chiștilor ovarieni

Ovariopatia chistică este foarte rară la bivoliță, considerată o consecință a unei dereglări polifactoriale.

Chiștii ovarieni sunt reprezentați prin cavități închise, localizate în parenchimul ovarian sau pe suprafața acestuia. Aceștia au fost diagnosticați la Ferma I, 13,7% din totalul afecțiunilor ginecologice diagnosticate (10 cazuri de chiști ovarieni). Cazurile de chiști foliculari au fost diagnosticate în lunile aprilie – iunie, reprezentând 50% și chiștii luteinici tot 50%, din totalul cazurilor de chiști ovarieni, stabilit pe toată perioada anilor studiați (2016 – 2017).

Diagnosticul a fost stabilit prin examinarea repetată a ovarelor, la un interval de 10 -12 zile, când pe ovar a fost palpată o formațiune care deforma conturul ovarului, plină cu lichid și încapsulată. Ovariele diagnosticate cu chisti au fost mărite în volum, cu o consistență fluctuantă, separate de o capsulă mai subțire sau mai groasă în funcție de tipul chistului.

Chiștii ovarieni se dezvoltă doar pe formațiuni fiziologice: foliculi și corpi luteali. Diagnosticul diferențial între aceste categorii de chiști foliculari, luteinici și luteali s-a făcut ținând-se seama de mai multe criterii, acestea fiind de ordin comportamental, clinic, paraclinic.

Din punct de vedere clinic, examenul transrectal al ovarelor a reprezentat un factor esențial în stabilirea diagnosticului de chiști ovarieni, dar dificil de interpretat numai pe această cale, diagnosticul diferențial a fost necesar să se facă între chistul folicular și cel luteinic.

Astfel, s-a ținut seama că la chistul folicular capsula este mai subțire, cu grosime uniformă pe toată suprafața sa.

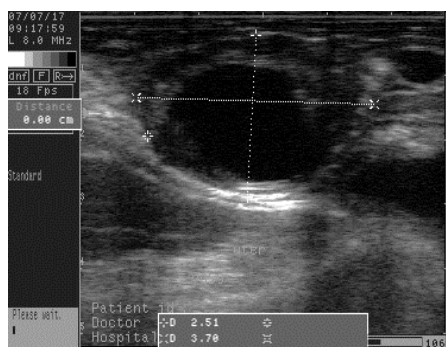
Din punct de vedere clinic - comportamental, bivolițele cu chist folicular au manifestat estru frecvent, la intervale din ce în ce mai scurte (9 – 16 zile).

Aceste aspecte au fost prezente doar pentru o perioadă de timp, perioada activă a chistului folicular. După un interval de timp chistul folicular a devenit inactiv, din cauza compresiunii pe teaca internă s-a produs degradarea tecilor, luteinizarea lor, scăderea volumului prin plisarea peretelui chistic moment din care bivolița a devenit anestrică și s-a instalat sindromul de anafrodizie. Astfel a luat naștere chistul luteinic, din cel folicular.

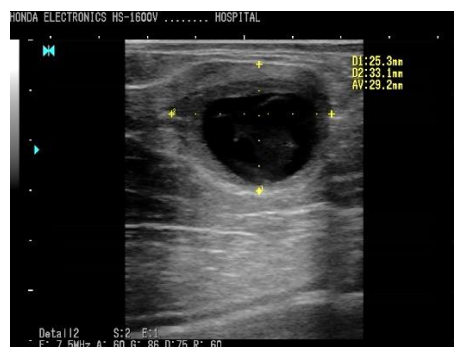
Chiștii ovarieni luteinici s-au format pe suportul unor foliculi maturi care au suferit luteinizarea tecii interne și a granuloasei înainte de ovulație.

Din punct de vedere morfologic, chistul ovarian luteinic este mărginit de o capsulă fibroasă ce conține un lichid de consistență mai crescută. Mărimea acestei formațiuni variază de la 2 cm până la 4 - 5 cm (fig.7.10).

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 (fig. 7.10).



A. Ovar de 2,5/3,7 cm cu perete chistic îngroșat, sonda 8MHz



B. Ovar de bivolită chistizat, cu dimensiune de 2,5/3,3 cm cu conținut hiperecogen septat, sondă 7,5MHz

Fig. 7.10 Chiști luteinici la bivolită

Fig. 7.10 Luteinic cysts in buffalo

Corpii luteali chistici apar pe suportul unor corpi luteali care suferă procese de blocare a involuției lor și a unui proces de degenerare în masa corpului luteal.

Tratamentul aplicat bivolițelor diagnosticate cu corp luteal persistent (21 cazuri), în Ferma II în anii 2017 - 2018, a fost bazat pe preparatul Estrumate (substanța activă cloprostenol 250 $\mu\text{g/ml}$) în doză de 2 ml, administrat intramuscular. În 20% din cazuri estru a apărut până la 3 zile de la administrarea prostaglandinei, iar la 30% din cazuri estru a apărut după 15 zile de la prima administrare (fig. 7.11).

La bivolițele care au intrat în călduri tardiv după tratament (15 zile), practic le-a fost administrată o a doua doză de prostaglandină la 11 zile față de precedenta, iar faza estrală a apărut la 3 zile de la rapel.

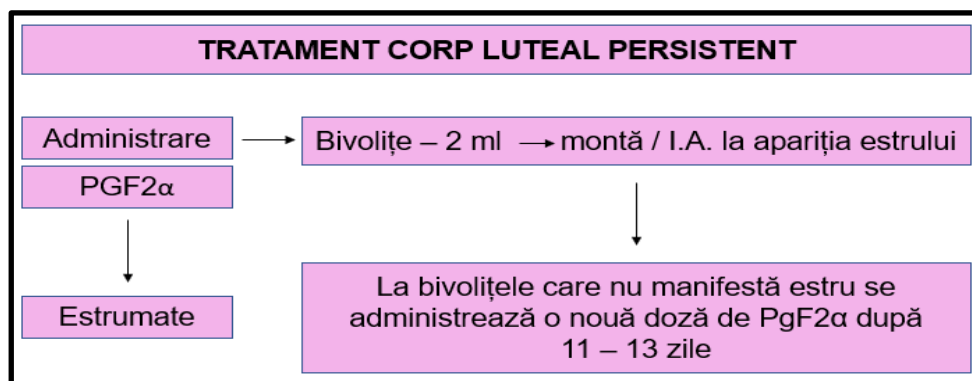


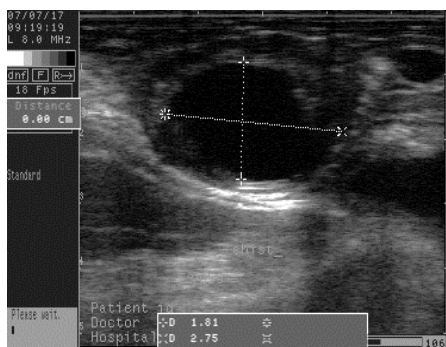
Fig. 7.11 Schema terapeutică aplicată în Ferma II pentru tratamentul corpului luteal persistent

Fig. 7.11 Therapeutic scheme applied in Farm II for treatment persistent luteal body

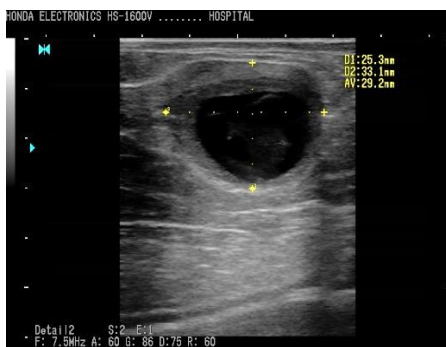
În cazul Fermei II, bivolițele diagnosticate cu hipotrofii ovariene sau ovare inactive sunt tratate după același protocol aplicat cazurilor de CPL.

Gonadotropina corionică în doză de 1500 UI a fost utilizată pentru terapia chiștilor foliculari. Acțiunea primară vizată a fost de a produce ovulația și deci de a rupe peretele chistului format.

Dintre cazurile tratate cu chiști foliculari (2/5 cazuri) 40% din bivolițele cu chiști ovarieni au intrat în călduri la peste 21 de zile de la administrarea tratamentului (interval de 21 – 25 zile).



A.



B.

Fig. 7.12 Ovar de bivoliță. Chist Luteinic. A: sondă 8 MHz, dimensiuni 2,7 / 1,8 cm; B: sondă 7,5 MHz, dimensiuni 2,5 / 3,3 cm

Fig. 7.12 Buffalo ovary. Luteinic cyst. A: 8 MHz probe, dimensions 2.7 / 1.8 cm; B: 7.5 MHz probe, dimensions 2.5 / 3.3 cm



Fig. 7.13 Ovar bivoliță, Chist luteinic după 12 zile de la tratament cu HCG

Fig. 7.13 Buffalo ovary, lutein cyst 12 days after HCG treatment



Fig 7.14 Aspectul ovarului cu chist luteinic tratat prin combinatia HCG-PG. Corticala ovariană cu zone insulare de fibroză.

Fig 7.14 Appearance of the ovary with lutein cyst treated by the HCG-PG combination

Administrarea combinată a gonadotropinei corionice și a PGF2 α , s-a aplicat în cazul chiștilor luteinici. În alegerea tratamentului s-a mizat pe efectul HCG-ului care are activitate de tip LH, exercitând astfel o lungă acțiune luteotropă directă asupra chistului ovarian pe care l-a luteinizat. După 12 zile

de la tratamentul cu gonadotropina a fost administrată o doză de PGF2 α pentru a liza celulele luteale din chistului luteinic (fig. 7.12 – fig. 7.14).

Din cazurile tratate cu chiști luteinici (1/5 cazuri) 20% din bivolițele cu chiști ovarieni au intrat în călduri la 17 zile de la sfârșitul tratamentului, iar în restul cazurilor revenirea ciclicității a fost mai tardivă (după 60 de zile).

7.2.3. Diagnosticul incidența și tratamentul retenției anexelor fetale

În fermele de bivolițe luate în studiu, pe parcursul celor doi ani, s-a înregistrat un procent de 19 % retenții ale anexelor fetale raportat la numărul de fătări în Ferma I (100 fătări) și respectiv 8,6% retenții ale anexelor fetale în Ferma II raportat la 244 de fătări (fig. 7.15 și fig. 7.16).

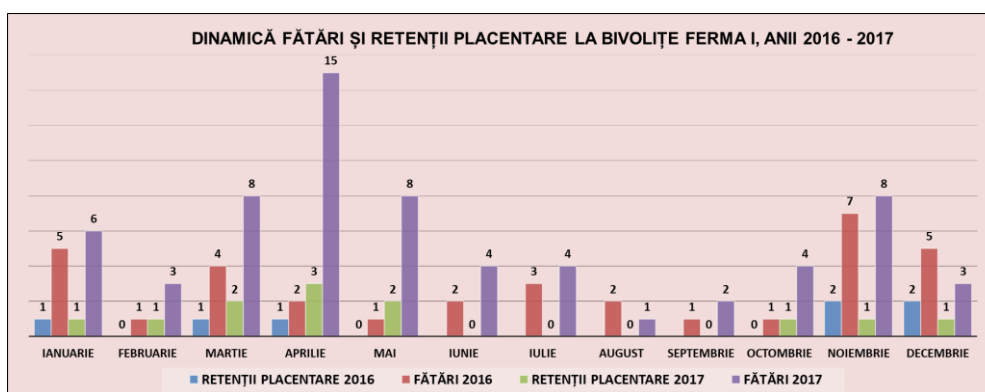


Fig. 7.15 Dinamica parturițiilor și retențiilor placentare în Ferma I, în anii 2016 – 2017

Fig. 7.15 Dynamics of calving and placental retention in buffalo cows in Farm I, in the years 2016 - 2017

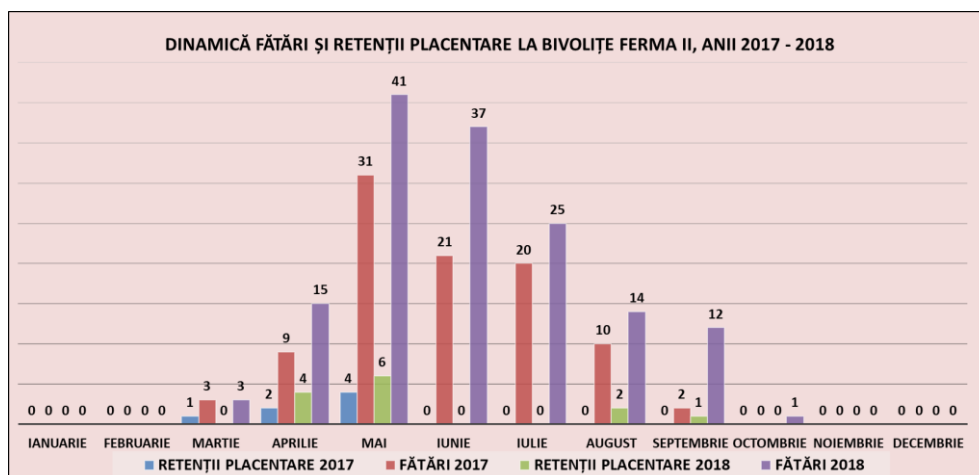


Fig. 7.16 Dinamica parturițiilor și retențiilor placentare în Ferma II, în anii 2017 – 2018

Fig. 7.16 Dynamics of calving and placental retention in buffalo cow in Farm II, in the years 2017 - 2018



Fig.7.17 Retenție anexe fetale la bivoliță
Fig.7.17 Buffalo fetal annexes retention



Fig. 7.18 Examen ginecologic transrectal la bivolițe, îndepărtarea placentei
Fig. 7.18 Transrectal gynecological examination in buffalo cows

Diagnosticul de retenție placentară s-a stabilit prin faptul că anexele fetale nu s-au eliminat în mod fiziologic în primele 12 ore de la expulzarea produsului de concepție. În mod normal placenta se elimină spontan în circa 3 - 6 ore după ce fetusul a fost expulzat (fig. 7.17 și fig 7.18).

La inspecția bivoliței s-a constatat prezența anexelor fetale între labiile vulvare, de culoare roșie-palid, murdărite de fecale și așternut, la efectuarea unor tracțiuni ușoare pe placenta, aceasta a rămas ancorată pe carunculi.

La examenul transvaginal s-a constatat prezența învelitorilor fetale, cervix între-deschis, plin cu învelitori fetale și cantități variabile de lichide. Bivolița prezintă eforturi de expulzare, eliminând lichide fetale, detritusuri celulare și coaguli de sânge.

Tratamentul a urmărit îndeplinirea următoarelor obiective: eliminarea placentei; stimularea involuției uterine; combaterea infecției locale.

Pentru a realiza obiectivele menționate mai sus, în ferme s-a aplicat următorul protocol de tratament: s-a îndepărtat manual placenta, s-a administrat ocitocină 40 - 50 U.I. i.m. și s-a administrat antibiotice intrauterin sub formă de bujiuri spumante, Pesarii (substanțe active oxitetraciclină clorhidrat 250 mg și neomicină sulfat 250 mg) și repetat la 24 h. În cazurile grave, complicate cu modificări generale tratamentul a fost completat cu administrare generală de oxitetraciclină și dexametazonă. Toate cazurile de retenții ale anexelor fetale diagnosticate și tratate au fost vindecate.

7.2.4. Diagnosticul, incidența și tratamentul afecțiunilor inflamatorii uterine

În perioada studiată endometrite au fost diagnosticate la Ferma II având un procent de 23,86% din totalul afecțiunilor înregistrate, numărul de cazuri fiind 21 (7 cazuri în 2017 și 14 cazuri în 2018).

Endometrita este o infecție a perioadei puerperale având ca și etiologie o furajare precară și dezechilibrată în timpul gestației, condiții de zooigienă necorespunzătoare, lipsa de mișcare și alte afecțiuni uterine precum retenția placentară, prolapsul uterin, fătări distocice coroborate cu flora microbiană streptococică și anaerobă (Livia Vidu și Bota, 2014)

Diagnosticul a constat în preluarea datelor anamnetice de la îngrijitori, examenul general al femelei, efectuarea examenului vaginal și a examenului transrectal.

Evoluția afecțiunilor endometriale s-a produs în intervalul 4 – 10 zile post-partum în cazul endometritei purulente și în intervalul 10 – 12 zile post-partum pentru endometrita catarală.

La examenul general s-a observat starea generală nealterată, slăbire, horipilație, normotermie, producția de lapte scăzută, murdărirea cu exudat mucos sau muco-purulent a trenului posterior (fig. 7.19 și fig. 7.20).

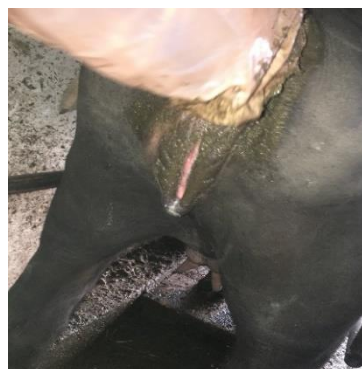
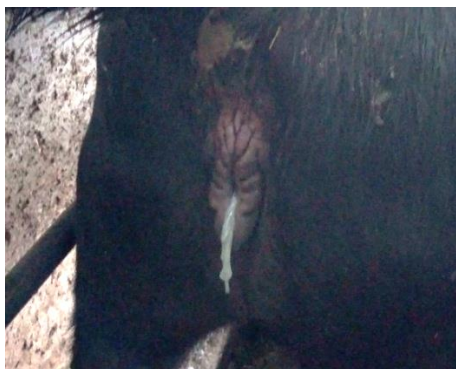


Fig. 7.19 Scurgeri vaginale în endometrită Fig. 7.20 Endometrită cronică cu secreții reduse
Fig. 7.19 Vaginal discharge in endometritis Fig. 7.20 Reduced secretion of chronic endometritis

La examenul vaginal s-a observat hiperemia mucoasei, sensibilitate exagerată, cantitate crescută de mucus de culoare alb murdar, gri sau glăbui, uneori roșiatic cu sfacele de mucoasă.

La examinarea transrectală s-a constatat sensibilitate locală crescută, o fluctuație a uterului de diferite grade în funcție de cantitatea de material infecțios acumulat, în unele cazuri s-a palpat și corpul luteal.

Conduita terapeutică în cazul endometritelor puerperale, pentru a maximiza eficiența tratamentului, cuprinde asocierea tratamentului local cu cel general.

Tratamentul local a prevăzut asepsia uterină și evacuarea conținutului inflamator prin sifonaj cu soluție 1% Rivanol, urmată de antibioterapie locală prin administrarea de bujiuri spumante (Pesarii), între 2 - 4 bujiuri / 24 h, timp de 2-3 zile. Tratamentul pe cale generală a fost efectuat bivolițelor care au fost diagnosticate cu endometrită purulentă și acesta a inclus antibioterapie sistemică (Oxitetraciclină i.m., 1 ml / 10 kg greutate corporală, timp de 3 - 5 zile) și local instilații cu preparatul Metricure (Cefapirin 500 mg).

7.3. Concluzii parțiale

1. Pe parcursul anilor de studii, la Ferma I au fost diagnosticate 73 cazuri de afecțiuni ale aparatului genital - chiști foliculari, chiști luteinici, hipotrofii ovariene, prolaps uterin, retenții placentare și 88 cazuri de afecțiuni ginecologice la Ferma II (corp luteal persistent, hipotrofii ovariene, endometrite, prolaps uterin, retenții placentare).

2. La Ferma I, în cei doi ani studiați s-au produs 24 de fătări distocice, acestea fiind de diverse naturi: distocii în prezentare anterioară (75 %), cu reținere membre anterioare și distocii cu reținerea capului, distocii în prezentare posterioară 16,7 %, și distocii datorate monstruoziților 8,3 %.

3. Frecvența retențiilor placentare în perioada studiată a fost crescută în lunile reci ale anului (sezonele toamnă – iarnă și începutul primăverii), în perioada iunie – septembrie neînregistrându-se niciun caz.

4. 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.

1. După tratamentul descris și aplicat bivolițelor cu hipotrofie ovariană de gradul I, în ferma Terra di Buffala, toate au prezentat estru în 3 zile de la administrarea PMSG-ului

2. Tratamentul hipotrofiei ovariene de gradul II a fost eficient la 62,2% din cazurile tratate, care au manifestat estru imediat după tratament, iar la 37,8% din cazuri estru a apărut mai târziu, după 18 de zile..

3. Ținând cont de sezonalitatea bivoliilor 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.

4. Administrarea HCG-ului în hipotrofia de grad II, cu efect de LH, a fost efectuată la depistarea estrului și cu cel puțin 2 ore înainte de inseminare. Rolul administrării este de a produce ovulația foliculilor crescuți pe ovar.

5. Hipotrofia de gradul III a fost considerată atrofie ovariană și nu a fost supusă tratamentului deoarece răspunsul ovarian este slab sau inexistent, iar tratamentul costisitor.

6. Tratamentul aplicat bivolițelor diagnosticate cu corp luteal persistent în Ferma II în anii 2017 - 2018, a fost efectuat cu preparatul Estrumate (substanța activă cloprostenol 250 µg/ml) în doză de 2 ml, administrat intramuscular. În 20% din cazuri estru a apărut până la 3 zile de la administrarea prostaglandinei, iar la 30% din cazuri estru a apărut după 15 zile de la prima administrare.

7. Din cazurile tratate cu chiști foliculari, 40% din bivolițele au intrat în călduri la peste 21 de zile de la administrare (interval de 21 – 25 zile).

8. Administrarea combinată a gonadotropinei corionice și a PGF2α, s-a aplicat în cazul chiștilor luteinici. În alegerea tratamentului s-a mizat pe efectul HCG-ului care are activitate de tip LH exercitând astfel o lungă acțiune luteotropă directă asupra chistului ovarian pe care l-a luteinizat.

9. Din cazurile tratate cu chiști luteinici 20% din bivolițele cu chiști ovarieni au intră în călduri la 17 zile de la sfârșitul tratamentului, iar în restul cazurilor revenirea ciclicității a fost mai tardivă (după 60 de zile).

8. CERCETĂRI PRIVIND UTILIZAREA UNOR METODE BIOTEHNICE DE INDUCERE A ESTRULUI LA BIVOLIȚE

8. RESEARCH ON THE USE OF BIOTECHNICAL METHODS FOR INDUCING ESTRUS IN BUFFALO COW

Pentru a se menține un interval de 13 - 14 luni între fătări la bivolițe, inseminarea trebuie să aibă loc în intervalul de 85 - 115 zile după fătare. Refacerea completă a uterului, reluarea activității ovariene și apariția căldurilor au loc, de obicei, în jur de 20 - 50 de zile post-partum; așadar, există o fereastră de 35 - 95 de zile pentru ca o bivoliță să rămână gestantă în vederea menținerii intervalului dorit între fătări.

Deși inseminarea artificială poate însemna o îmbunătățire semnificativă în ceea ce privește ameliorarea genetică la bivol, aplicarea sa practică a fost dificilă din cauza vizibilității reduse a semnelor de estru și slaba lui detectare de către oameni, a duratei variabile a estrului și a dificultății de a prezice momentul ovulației. Mai recent, dezvoltarea protocoalelor pentru sincronizarea ovulației și a inseminării artificiale programate la bivolițe a fost folosită pentru a depăși aceste constrângeri și pentru a putea folosi inseminarea artificială pe scară largă în ferme.

8.1. Utilizarea PGF2 α în inducerea luteolizei

8.1.1 Material și metodă

Pentru stimularea fazei estrale a fost utilizat protocolul descris în literatura de specialitate (Ardelean, 2002, **Liliana Ciornei, 2019**) privind inducerea estrului la bovine și bubaline folosind prostaglandinele. PGF2 α are un efect luteolitic asupra corpului luteal și va induce o creștere a secreției de gonadotrofine hipofizare într-un interval de 2 - 3 zile de la aplicare (fig. 8.1).

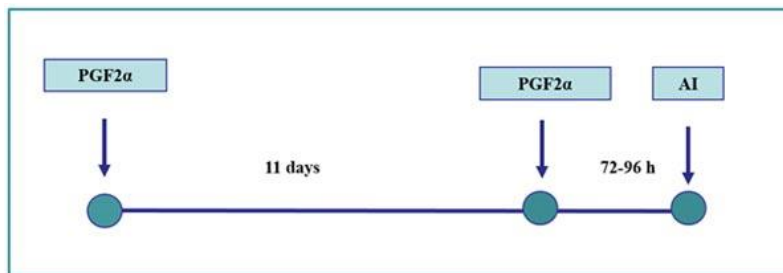


Fig. 8.1. Protocolul de inducere a estrului la bivolițe pe baza administrării de PGF2 α

Fig. 8.1. Estrogen induction protocol in buffaloes based on PGF2 α administration

Acest experiment a fost realizat pe un număr de 24 de bivolițe multipare, la peste 60 de zile postpartum și aflate în perioada de lactație.

După examinarea ginecologică și generală au fost administrate la toate bivolițele (24) câte o doză de Estrumate de 2 ml, i.m. Acesta reprezintă cea mai simplă schemă de inducere a estrului prin controlul progesteronului seric, grăbind involuția corpului luteal. Astfel, după prima doză de PG, dacă există CL activ și secretor de progesteron (P4), se va produce luteoliza acestuia, scăderea secreției de P4 și inducerea sintezei de FSH și LH adenohipofizar sub influxul Gn-RH-ului hipotalamic. Dacă titrul de FSH este suficient de amplu și constant se va induce un val folicular ce grăbește maturarea unui folicul, cu apariția estrului clinic.

8.1.2 Rezultate și discuții

Dacă într-un interval de 2 - 3 zile de la administrarea prostaglandinei, nu se observă nicio modificare estrală, după 11 zile se administrează a doua doză de PGF 2α . Rapelul dozei de prostaglandină mizează pe faptul că în perioada anterioară (2 - 11 zile) nu au existat pe ovar structuri luteale care să răspundă la tratament. După acest interval, care cuprinde și faza de organizare și proliferare a unui posibil corp luteal, acesta va deveni sensibil la PGF 2α și a doua doză administrată la 11 zile va avea efect luteolitic, ducând la apariția estrului.

Bivolițele care răspund la tratamentul cu PGF 2α sunt cele care au un ciclu regulat și au într-un interval de 11 zile o activitate luteală.

În cazul studiului nostru, a fost inițiată terapia cu o singura doză de PGF 2α , a fost monitorizată apariția estrului după 2 - 3 zile, pentru bivolițele care nu au manifestat estru s-a continuat schema de tratament cu a doua doză de PGF 2α la 11 zile.

După prima administrare de PGF, au fost diagnosticate în faza estrală 25% bivolițe (6/24).

La 75% dintre bivolițe li s-a administrat și a doua doză de PGF, care a indus estru în ziua 13 - 14 la un număr de 8/24 bivolițe, procentual reprezentând 33,3%.

Luând în calcul inducerea estrului prin administrarea de factor luteolitic (PGF) la bivolițe în luna februarie, se constată o valoare de 58,3% (14/24) estru indus (25% în urma unui singure administrări, respectiv 33,3% după cea de-a doua) (tabelul 81).

Rata apariției estrului a fost monitorizată și cu fenomenul de acceptare a masculului, iar în urma tratamentului hormonal a fost efectuată monta dirijată cu un taur de bivol selectat.

Diagnosticul de gestație a fost stabilit ecografic la 60 de zile de la estru. A fost calculată rata concepției (RC) ca fiind numărul de animale diagnosticate

gestante din totalul animalelor intrate în tratament cu PGF2 α (cu una s-au cu două administrări). Astfel RC pentru inducerea estrului cu PGF2 α în doza unică și repetată la 11 zile a fost de 41,6% (10/24).

Tabelul 8.1

Apariția estrului și rata concepției (RC) după protocolului PG cu una sau doua administrări

Table 8.1

The appearance of estrus and conception rate (RC) in buffaloes following the PG one and two shot protocol

Bivolite la prima doză de PGF2 α		Estru+Montă (după 2 - 3 zile)		A doua-a doză PGF2 α (ziua 11)		Estru+Montă (în ziua 13 - 14)		RC (Gestație de 60 zile)	
Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
24	100	6	25%	18	75%	8	33,3	10	41,6
		14/24 (58,3%)						10/24 (41,6%)	

8.2. Inducerea estrului la bivolite prin metode biotehnice

8.2.1 Material și metodă

Pentru acest experiment au fost selectate un număr de 17 bivolite cu vârsta de peste 20 de luni, care au avut cel puțin două cicluri sexuale și care au fost sănătoase din punct de vedere clinic. Protocolul de inducere a estrului a fost derulat în luna iulie a anului 2017 (ferma Terra di Bufala).

Animalelor li s-au aplicat implanturi vaginale cu progesteron PRID Delta (substanța activă – progesteron, în doză de 1.55 g/implant, dispozitiv triunghiular, albicios, cu prelungitor).

Dispozitivele cu progesteron au fost introduse cu un aplicator transvaginal în ziua 0 și menținute un timp de 12 zile.

În ziua a 11-a s-a administrat o doză de 2 ml prostaglandina (PGF2 α) care are ca scop luteoliza eventualului corp luteal de pe ovare, astfel se elimină potențiala sursă a progesteronului endogen.

În ziua a 12-a au fost extrase spiralele intravaginale producându-se o scădere bruscă a nivelului de progesteron circulant efectiv din sange. (tabelul 8.2).

Tot în ziua a 12-a a fost administrată o doză de 500 UI de PMSG, mizând pe efectul de stimulare a creșterii foliculare. Decizia de a completa schema de stimulare a estrului cu o doză medie de gonadotropină serică a fost data de faptul că vițelele se aflau în afara sezonului normal de reproducție și este necesară o stimulare suplimentară pentru a induce estru.

8.2.2 Rezultate și discuții

Prin inducerea efectului Rebound (stimularea gonadotropinelor hipofizare endogene FSH și LH) și administrarea de PMSG (gonadotropină serică extrahipofizară) s-a încercat controlul valurilor foliculare prin inducerea unuia de urgență până la stadiul de folicul matur și ovulator.

Tabelul 8.2

Schema de tratament combinată între PRID, PGF și PMSG

Table 8.2

Combined treatment regimen between PRID, PGF and PMSG

Timpul tratamentului	Medicamente administrate	Observații
Ziua 0	PRID – introducere intravaginal	Creșterea P4 seric, blocarea hipotalamusului și a valurilor foliculare
Ziua 11	PGF2 α - 2 ml i.m.	Luteoliză
Ziua 12	PRID – eliminare Administrare - PMSG 500 UI	Scăderea P4 circulant Reluare unui val follicular (efect Rebound), Creștere și maturare foliculară
Ziua 13 – 15	Estru	După manifestarea clinică

Tabelul 8.3

Inducerea estrului și rata concepției (RC) la bivolițe în urma protocolului de gestionare a valurilor foliculare cu PRID, PGF și PMSG

Table 8.3

Estrus induction and conception rate (CR) in buffaloes following the follicular wave management protocol with PRID, PGF and PMSG

Bivolițe inserție PRID		PGF Ziua 11		Extragere PRID Administrare PMSG (ziua 12)		Estru Montă (ziua 13 - 14)		RC (Gestație 60 zile)	
Nr	%	Nr	%	Nr	%	Nr	%	Nr	%
17	100	17	100	17	100	15	88,2	13	76,5

Din experimentul efectuat se constată că inducerea estrului la vițele de bivoliță în extrasezon (vara) avut o valoare de 88,2 % (15/17). La toate bivolițele aflate în estru a fost identificat ecografic pe ovar unul sau doi foliculi dominanți. Dimensiunea foliculilor dominanți în sezonul de vară au variat între 0,9 și 1,2 cm (tabelul 8.3).

Procentul obținut (88,2%) de bivolițe în estru, în sezonul de vară este unul foarte bun, comparativ cu literatura de specialitate, unde se raportează

procente de la 40 la 80 %. Explicația este faptul ca materialul biologic a fost reprezentat de bivolițe selectate pe criterii ginecologice, schema terapeutică a folosit hormoni ce gestionează cu precizie valurile foliculare (gonadotropine endogene și exogene), iar folosirea progesteronului într-o schema de sincronizare, duce întotdeauna la îmbunătățirea răspunsului ovulator.

Rata de gestație în sezonul de vară a atins valori de 76,5% (13/17) în urma monei dirijate. De remarcat este că, în cazul terapiei aplicate cu P4, PGF și PMSG în sezonul de vara au fost diagnosticate cazuri de chisti luteinici în proporție de 16,6% (3/17).

8.3. Concluzii parțiale

1. La ferma Terra di Bufal, Războieni, după prima administrare de PGF2 α , au fost diagnosticate în faza estrală 25% dintre bivolițe. La 75% dintre bivolițe li s-a administrat și a doua doză de PGF, care a indus estru în ziua 13 - 14 la un procent de 33,3% dintre bivolițe.
2. Luând în calcul inducerea estrului prin administrarea de factor luteolitic (PGF) la bivolițe în luna februarie, se constată o valoare de 58,3% estru indus (25% în urma unei singure administrări respectiv 33,3% după a 2-a).
3. Rata concepției totale pentru inducerea estrului cu PGF în doza unică și repetată la 11 zile a fost de 41,6%.
4. Inducerea efectului Rebound și administrarea de PMSG 500 UI a încercat controlul valurilor foliculare prin inducerea unui de urgență până la stadiul de folicul matur și ovulator la bivolițe în extrasezon.
5. Inducerea estrului la vițele de bivoliță în extrasezon (vara) avut o valoare de 88,2 %. La toate bivolițele aflate în estru clinic a fost identificat ecografic pe ovar unul sau doi foliculi dominanți.
6. Rata de gestație în sezonul de vară a atins valori de 76,5% în urma monei dirijate. În cazul terapiei aplicate cu P4, PGF și PMSG în sezonul de vară, la ferma de la Războieni au fost diagnosticate cazuri de chisti luteinici în proporție de 16,6%.

9. PROVOCAREA ESTRULUI, A OVULAȚIEI ȘI STABILIREA MOMENTULUI OPTIM DE ÎNSĂMÂNȚARE ARTIFICIALĂ ÎN FERMA BRADANO RIVER

9. CHALLENGE OF ESTRUS, OVULATION AND FIXED TIMES OF ARTIFICIAL INSEMINATION AT THE BRADANO RIVER FARM

La bivoliță, faza foliculară a ciclului sexual se caracterizează prin semne comportamentale foarte șterse. Estimări neoficiale ale Centrului Operativ de Inseminări artificiale C.O.F.A., Cremona, Italia, privind ponderea utilizării inseminărilor artificiale la bubaline în Italia sunt apreciate undeva la 80% din totalul fermelor. În cadrul acestor ferme însă, se estimează că doar 40% dintre ele utilizează exclusiv inseminarea artificială în cadrul managementului reproductiv. Restul fermelor utilizează atât monta naturală cu tauri cât și inseminarea artificială. Numărul mic de produși rezultați în urma inseminării artificiale cu material seminal congelat, proveniți de la tauri selecționați îngreunează progresul genetic la această specie de animale (www.cofa.it).

Au fost dezvoltate mai multe protocoale de sincronizare a estrului și ovulației cu scopul de a îmbunătăți eficiența reproducției. Pentru a sincroniza ciclul estral, activitatea ovariană este manipulată astfel încât momentul ovulației să poată fi preconizat. Acest lucru este obținut prin controlul fazei luteale a ciclului prin administrarea de prostaglandină sau progesteron; controlul dezvoltării foliculare și al ovulației prin folosirea unor diverse combinații de prostaglandină, progesteron, GnRH, HCG, ECG și estradiol (Hafez, 2010, Șonea, 2004, Bogdan, 2000, Pall Eموke, 2019, Mircu, 2008).

9.1 Material și metodă

Scopul acestui studiu a fost de a induce faza estrală și de a compara rata concepției consecutiv inseminărilor artificiale în cadrul unui protocol de sincronizare a ovulației la bivoliță pe mai multe categorii ginecologice, cum ar fi vițele, primipare și multipare.

Studiul s-a desfășurat într-o fermă "BRADANO RIVER", din Italia, pe bivolițe din rasa Mediteraneană. Cercetările au fost desfășurate pe perioada octombrie 2015 – decembrie 2017. Ferma are un număr total de 622 bubaline. Pe categorii de vârstă acestea sunt reprezentate de 340 bivolițe (54,6%), dintre care 260 în lactație, 18 bivoli (2,9%), 233 vițele (37,4,2%), 31 tineret femel (4,8%).

Protocolul Ovsynch/Resynch și programarea IA. Protocolul constă în combinarea a două protocoale Ovsynch pe o perioadă de 38 de zile. Startul

protocolului s-a făcut cu administrarea unui analog de GnRH în doză de 20 µg la toate femelele în ziua 0, urmat de inocularea în ziua a VII-a a 500 µg PGF2α și în ziua a IX-a a doua doză de analog de GnRH. Inseminarea artificială a fost efectuată la interval de 16 - 20 de ore de la ultima administrare de analog de GnRH (fig. 9.1).

La 28 de zile de la inseminarea artificială, fără un prealabil control, s-a reînceput protocolul Ovsynch prin administrarea de analog de GnRH. Administrarea analogului de GnRH nu influențează negativ gestația, dacă aceasta s-a instalat. Conform datelor din literatură inocularea de GnRH produce ovulația unui folicul mai mare de 10 mm (Birțoiu 2005, Ciornei ș.a., 2020). În ziua 35 de la inseminarea artificială (ziua 7 de la inițierea celui de al II-lea protocol OvSynch) s-a efectuat diagnosticul de gestație la toate femelele. Bivolitele care la ziua 35 nu au fost confirmate ca fiind gestante au fost injectate cu o doză de PGF2α. La 37 de zile de la inseminarea artificială, respectiv ziua a IX-a de la începutul celui de-al doilea protocol Ovsynch, s-a administrat a doua doză de analog al GnRH. Inseminarea artificială a fost executată la 16 - 20 de ore de la ultima inoculare de GnRH.

Astfel, femelele gestante nu au parcurs al doilea program Ovsynch de sincronizare a estrului rămânând doar cu analogul GnRH-ului la 28 de zile.

Inseminarea artificială s-a făcut cu materialul seminal congelat, furnizat în paiete de 0,25 ml, ce a fost decongelat timp de 1 minut la temperatura de 37,5 °C. Inseminarea artificială a fost efectuată prin metoda recto-vaginală, bimanuală. Materialul seminal utilizat pentru inseminarea artificială a provenit de la taurii Direction, Rainbow, Gokhan, Starwars, Blackstar, Isidoro, Uranio, Batiman, Otello și Allblack, furnizat de către Centrul Operativ de Inseminări artificiale C.O.F.A. Cremona, Italia.

Diagnosticul de gestație s-a efectuat prin examen ecografic la 35 de zile după IA. Rata concepției a fost calculată prin numărul de fătări raportate la totalul femelelor inseminate artificial.

În acest studiu au fost luate femele aparținând categoriilor ginecologice vițele, primipare și multipare. Ferma la care s-au efectuat cercetările a beneficiat pentru managementul reproductiv și cel productiv de un software furnizat de către Asociația Italiană a Crescătorilor de Animale (A.I.A.) care se numește SI@LLEVA. Din acest sistem au fost preluate datele privind rata concepției la categoriile ginecologice de animale luate în studiu.

Rata concepției a fost calculată pe anotimpuri, pe un număr de 488 de inseminări artificiale efectuate în perioada octombrie 2015 – decembrie 2017. Femelele au fost grupate pe categorii ginecologice. Femele nulipare (vițele) au avut vârsta de $20,8 \pm 2,4$ luni.

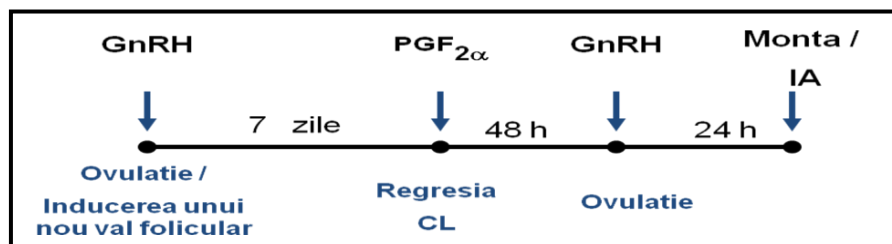


Fig. 9.1 Schema protocolului de sincronizare Ovsynch la bivolițele (C.O.F.A.)
 Fig. 9.1 Schematic of the Ovsynch Synchronization Protocol in Buffaloes (C.O.F.A.)

9.2 Rezultate și discuții

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, bioseuritate și alimentație.

În cadrul protocolului ce vizează dublu OvSynch, vacile de bivoli cu un puerperium normal încheiat sunt incluse repetat și continuu în acest program în intervalul 40 - 90 de zile PP. Dacă sunt bivolițe care nu sunt diagnosticate gestante, după 3 serii, acestea sunt catalogate infertile (fig. 9.2).

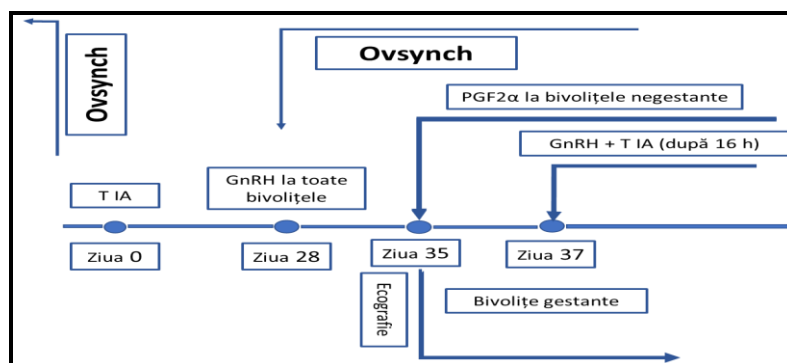


Fig. 9.2 Schema protocolului Resynch de sincronizare a estrului
 Fig. 9.2 Diagram of the Resynch protocol for estrus synchronization

Fecunditatea totală medie în ferma Bradano River în perioada luată în studiu a fost de 73,8% fiind diagnosticate gestante un număr de 456 de bivolițe din 618 IA.

La nulpăre (categoria vițelor aproximativ 18 luni) media totală a fecundității a înregistrat valoarea 78,5 %, (84/107) chiar dacă vițelele au fost sincronizate și IA doar în sezoanele de primăvară și vară.

La primipare, bivolițe sincronizate după prima parturiție, media fecundității a fost de 76,6 % (128/167).

La categoria pluriparelor, bivolițe cu mai mult de doua parturiții, valoarea medie a fertilității pe toată ferma a fost de 70,9 % (244/344).

Din tabelul 10.1 reiese că la categoria nuliparelor a fost înregistrată valoarea cea mai ridicată a concepției 78,5% urmată de primipare cu 76,6% și de multipare cu 70,9%. Valoarea medie de 73,8% pentru toată ferma cu 618 inseminari în doi ani, este o valoare considerată foarte bună.

Analizând rata concepției sub influența efectul combinat al celor doi factori (categoria ginecologică și sezon) (tabelul 10.1) se observă o influență crescută a categoriei ginecologice asupra acestui parametru la femelele inseminate primăvara.

În sezonul de primăvară s-au înregistrat valori cuprinse între 79% pentru multipare și 94,4 % pentru primipare.

Prin urmare, la primipare primăvara rata concepției a fost superioară celorlalte categorii de vârstă cu 10,2% față de vitele, și cu 15,4% față de multipare. La vițele (nulipare) diferența înregistrată a fost cu 5,2% mai ridicată față de multipare (84,2-79), și mai scăzută cu 10,2% față de primipare (84.2 – 94,4).

Tabelul 9.1

Centralizator privind rata concepției în urma protocolului OvSynch și ReSynch pe categorii ginecologice și anopimp

Table 9.1

Centralization on the conception rate following the OvSynch and ReSynch protocol by gynecological and anopimp categories

Anotimp	VIȚELE			PRIMIPARE			MULTIPARE			TOTAL
	Ovsynch	Resynch	TOTAL	Ovsynch	Resynch	TOTAL	Ovsynch	Resynch	TOTAL	
PRIMĂ- VARĂ	68,4 % (39/57)	15,7 % (9/57)	84.2 % (48/57)	83,3 % (15/18)	11,1 % (2/18)	94,4 % (17/18)	67,7 % (42/62)	11,3 % (7/62)	79 % (49/62)	83,2 % (114/137)
VARĂ	52 % (26/50)	29% (10/50)	72 % (36/50)	47,1 % (25/53)	22,5 % (12/53)	69,7 % (33/53)	48,9 % (48/98)	9,1 % (9/98)	58 % (57/98)	62,7 % (126/201)
TOAMNĂ				58,9 % (33/56)	28,6 % (16/56)	87,5 % (49/56)	52,1 % (46/94)	26,5 % (25/94)	78,6 % (71/94)	80.0 % (120/150)
IARNĂ				47,5 % (19/40)	25 % (10/40)	72,5 % (29/40)	60 % (54/90)	14,4 % (13/90)	74,4 % (67/90)	73,8 % (96/130)
MEDIA			78,5 (84/107)			76,6 % (128/167)			70,9 % (244/344)	73,8 % (456/618)

În tabelul 9.2 sunt prezentate comparativ rezultatele ratei medii a concepției și pe categorii ginecologice în sezonul cald de primăvară și vară. Se observă că fecunditatea medie a fost de 71,01% (240/338).

În cadrul categoriilor ginecologice rata de concepție primăvară-vară a fost de 78,5% (84/107) la vițele, 70,41% (50/71) la primipare și de 66,25%

(106/160). Constatăm că rata concepției a înregistrat valori mai bune primăvara comparativ cu vara.

Aplicarea sincronizării estrului prin GnRH-PG-GnRH, duce la gestionarea exactă a valurilor foliculare și a managementului corpului luteal. Inducerea unui folicul dominant pe ovar și stimularea ovulației face ca IA să se facă la timp fix, fiind posibilă programarea ei în funcție de necesități și timp disponibil.

Pentru femelele care nu sunt diagnosticate gestante se continuă protocolul cu încă o schemă sau două de OvSynch (Resynch).

Utilizarea produselor hormonale cu tropism pentru gonade și hipofiză duce la o forțare a creșterii foliculare și la o intensificare a metabolismului la aceste nivele, ceea ce face ca vacile incluse în aceste programe să fie perfect echilibrate din punct de vedere metabolic.

Rezultatele obținute au fost înregistrate și centralizate cu programul de management al fermei și raportate pe sezon și pe categorii ginecologice (nulipare, primipare și multipare).

Dat fiind faptul că faza estrală la bivoliță este scurtă și puțin exprimată clinic, și cu influența negativă a climei din zona de Sud a Italiei, protocolul OvSynch și FTAI are un succes garantat.

Tabelul 9.2

Rata concepției în sezonul primăvară – vară, în funcție de categoria ginecologică în anii 2015 – 2017, la ferma BRADANO RIVER

Table 9.2

The conception rate in the spring-summer season, depending on the gynecological category, in the years 2015 - 2017, at the BRADANO RIVER farm

Categoria ginecologică	Rata concepției (%)	Anotimp	Rata concepției (%)
VITELE	78,5 (84/107)	PRIMĂVARĂ	83,2 (114/137)
PRIMIPARE	70,42 (50/71)	VARĂ	62,7 (126/201)
MULTIPARE	66,25 (106/160)	MEDIE PRIMĂVARĂ / VARĂ	71,01% (240/338)

În ceea ce privește influența anotimpului asupra ratei concepției, se observă că pe perioada cercetărilor de doi ani, femelele inseminate primăvara 83,2% (114/137), au prezentat o rată a concepției semnificativ mai ridicată decât în sezonul de vară 62,7% (126/201).

Diferența de fecunditate generală între sezonul de primăvară și vară a fost de 20,5% (tabelul 9.2).

Comparând cele două sezoane (primăvara și vara) între ele, se constată că în sezonul de primăvară rata concepției a fost superioară, cu valori

de +12,2% la vițele de +24,7% (94,4%-69,7%) la primipare, și de +21% la multipare (79%-58%).

Totuși fertilitatea a fost scăzută la toate categoriile ginecologice pe perioada verii, 72% la vițele, 69,7% la primipare și 58% la multipare. O posibilă explicație a acestui fenomen ar putea fi un efect negativ al temperaturilor crescute asupra funcției de reproducție la bivolițe. Se știe că în S-E Italiei temperaturile estivale sunt caniculare, iar acest aspect a fost combătut prin perdele de apă, curenți de aer și umbrare în dublu-triplu strat. Conform datelor din literatura de specialitate, temperaturile crescute au un efect negativ asupra funcției ovariene și a fertilității. Alți factori care influențează acțiunea fiziologică a hormonilor sunt vârsta femelelor, nutriția și variațiile mari de temperatură pe parcursul anotimpurilor.

Rezultatele obținute în acest studiu, privind rata concepției consecutiv utilizării protocolului OvSynch repetat, de sincronizare a estrului sunt asemănătoare și ușor superioare de cele ale lui Susanto și Royhan, (2017) Astfel, studiul efectuat de către acesta relevă o rată a concepției de 56,7% la femelele multipare, comparativ cu 58% obținut de noi. Remarcăm astfel o diferență de +1,3% la categoria ginecologică cea mai vulnerabilă reprezentată de multipare.

Protocolul Ovsynch cu FTAI, s-a dovedit eficient în cazul bivolițelor în ceea ce privește inducerea ovulației, în special la animalele ciclice, situație în care în timpul sezonului de împerechere și de inactivitate reproductivă eficacitatea tratamentului a fost similară cu un procent al ovulației cuprins între 81 % și 93 % și al ratei de concepție procent între 33 și 50 % (Ardelean, 2002). Totuși, bivolițele aciclice nu au răspuns satisfăcător la protocolul Ovsynch prezentând procente slabe ale concepției / ovulației, în comparație cu cele ciclice.

Protocolul Ovsynch nu este eficient în timpul sezonului de împerechere scăzută, dar administrarea de progesteron timp de 7 zile între primul tratament GnRH și PGF2 alfa crește fertilitatea (Ciornei ș.a., 2020).

Tratamentul Ovsynch a produs semne de estru la toate bivolițele. Toate animalele au prezentat un grad variat de tonus uterin sesizabil la palparea rectală, în timpul inseminării artificiale. Cervixul a fost suficient de deschis pentru pătrunderea ușoară a pistolului de inseminare în cazul tuturor bivolițelor. Toate animalele au prezentat un vestibul de culoare roz, vulvă inflamată și mucus clar, transparent la nivel vulvar dar în cantitate redusă.

Raportările rezultatelor RC din sezonul rece (toamnă și iarnă) sunt prezentate centralizat în tabelul nr 9.3. și au avut o valoare medie de 77,14% din 280 de inseminări.

În sezonul de toamnă media a fost de 80% (120/150) cu 87,5% (49/56) la primipare și de 78,6% (71/94) la multipare.

În sezonul de iarnă media RC a fost de 73,8% (96/130), cu 72,5% (29/40) la primipare și de 74,4% (67/90) la multipare.

La nivelul întregului experiment în sezonul de toamna-iarnă femelele primipare au înregistrat o rată medie a concepției de 81,25% (78/96) mai ridicată cu +6,25% față de multipare, aceste având o fecunditate de 75% (138/184).

În ceea ce privește efectul anotimpului rece asupra ratei concepției se observă că inseminările efectuate toamna au fost mai eficiente decât cele efectuate în perioada de iarnă, oferind posibilitatea înregistrării unei rate medii a concepției mai ridicată cu 6,2% (80%-73,8%) (tabelul 9.3).

Tabelul 9.3

Rata medie a concepției în funcție de categoria ginecologică și anotimp la bivolițe în anii 2015 – 2017, perioada toamnă – iarnă

Table 9.3

The conception rate according to the gynecological category and buffalo season in the years 2015 - 2017, autumn - winter period

Categoria ginecologică	Rata concepției (%)	Anotimp	Rata concepției (%)
PRIMIPARE	81,25 (78/96)	TOAMNĂ	80,00 (120/150)
MULTIPARE	75,00 (138/184)	IARNĂ	73,8 (96/130)
MEDIE TOAMNĂ / IARNĂ			77,14% (216/280)

În condițiile inseminărilor artificiale efectuate toamna la femelele primipare, rata concepției calculată din datele furnizate de programul SI@LLEVA implementat la nivelul de management al fermei de bivolițe italiene a fost cu 8,9 % mai crescută față de valoarea înregistrată aferentă femelelor multipare inseminate în aceeași perioadă și care au urmat aceeași schema de tratament ca și femelele primipare (tabelul 9.1).

În cazul inseminărilor efectuate în perioada de iarnă, categoria ginecologică nu a influențat major rata concepției. Astfel, diferențele dintre cele două categorii ginecologice au fost reduse de 1,9 % (74,4-72,5) (tabelul 10.4).

În anotimpul de toamnă diferența RC a fost de 8,9% (97,5-78,6) în favoarea primiparelor.

Luând în considerare efectul anotimpului asupra ratei concepției la fiecare categorie ginecologică din tabelul 10.4 se observă că la primipare această influență a fost considerabil mai mare decât la multipare. Astfel, în cazul femelelor primipare, în perioada de toamnă, rata concepției a fost mult mai mare, cu 15 % față de rezultatele din iarnă (87,5 - 72,5).

De asemenea, și în cazul femelelor multipare inseminările în toamnă, au fost mai eficiente decât cele efectuate iarna, rata concepției medii fiind cu 4,2 % mai crescută toamna (78,6 - 74,4).

Diversi autori indică faptul că, în perioada sezonului cu fertilitate scăzută se poate întâlni o oarecare activitate ovariană la unul sau chiar ambele ovare, dar în absența semnelor estrale. Datele din literatura de specialitate privind rata concepției în urma inseminării artificiale în cadrul protocolului OvSynch, în sezonul fertil și în afara acestuia, sunt extrem de diferite. (Barile, ș a., 2004, Brito ș.a., 2002, Carvalho, 2013)

Tabelul 9.4
Efectul categoriei ginecologice asupra ratei concepției la bivolițe în perioada toamnă-iarnă

Table 9.4

The effect of the gynecological category on the conception rate in the buffalo cow in autumn-winter

Categoria ginecologica	Rata concepției (%) Anotimp toamnă	Rata concepției (%) Anotimp iarnă
PRIMIPARE	87.5	72.5
MULTIPARE	78.6	74.4
DIFERENȚE TOAMNĂ / IARNĂ	8.9	1.9

Un alt factor care pare a influența parametri reproductivi la bivoliță este influența negativă a sezonului cald asupra hranei vegetale (la bivolițele aflate pe pășune). Nutriția este un alt factor important asociat cu durata ciclului estral și intensitatea manifestărilor comportamentale la bivoliță. În cadrul unor exploatații zootehnice unde hrănirea animalelor se face cu furaj unic (total mixed ratio - TMR) diferențele parametrilor reproductivi ar trebui să fie mai mici pe perioada sezonului de reproducție și în afara acestuia. Fierul, fosforul, zincul, cobaltul și cuprul sunt elemente care, prin carența lor, sunt asociate stării de anestrul la bivoliță (Campanile, ș.a., 2005).

Temperaturile ambientale extreme (prea cald sau prea frig) conduc la creșterea duratei ciclului sexual și scurtarea duratei estrului prin scăderea aportului de furaje. Scăderea activității tiroidine poate influența indirect eficiența reproductivă. Susceptibilitatea bubalinelor la stresul termic generat de temperaturile ridicate se datorează numărului mic de glande sudoripare pe unitatea de suprafață fapt ce împiedică termoreglarea (Monteiro ș.a., 2016).

9.3. Concluzii parțiale

1. Protocolul OvSynch multiplu, utilizat în Ferma BRADANO RIVER Italia, organizează activitatea de reproducție în fermă, astfel încât să existe o corelație echilibrată între numărul de animale, resursa umană și productivitate.
2. Aplicarea sincronizării estrului prin GnRH-PG-GnRH, duce la gestionarea exactă a valurilor foliculare și a managementului corpului luteal.

Inducerea unui folicul dominant pe ovar și stimularea ovulației face ca IA să se facă la timp fix, fiind posibilă programarea ei în funcție de necesități și timp disponibil.

3. Dat fiind faptul că faza estrală la bivoliță este scurtă și puțin exprimată clinic și cu influența negativă a climei din zona de Sud a Italiei, protocolul OvSynch și FTAI are un succes garantat.

4. Fecunditatea medie în ferma BRADANO RIVER în perioada 2015 - 2017 a fost de 73,8%, fiind diagnosticate gestante un număr de 456 de bivolițe din 618 IA.

5. La nulipare (categoria vițelor aproximativ 18 luni) media totală a fecundității a înregistrat valoarea 78,5%. La primipare, bivolițe sincronizate după prima parturiție, media fecundității a fost de 76,6%. La categoria pluriparelor, bivolițe cu mai mult de două parturiții, valoarea medie a fertilității pe toată fermă a fost de 70,9%.

6. La categoria nuliparelor a fost înregistrată valoarea cea mai ridicată a concepției 78,5% urmată de primipare cu 76,6% și de multipare cu 70,9%. Valoarea de 73,8% pentru toată ferma cu 618 inseminari în doi ani, este o valoare considerată foarte promițătoare.

7. La primipare, primăvara rata concepției a fost superioară celorlalte categorii de vârstă cu 10,2% față de vitele, și cu 15,4% față de multipare. La vițele (nulipare) diferența înregistrată a fost cu 5,2% mai ridicată față de multipare și mai scăzută cu 10,2% față de primipare.

8. Fecunditatea medie a sezonului cald pe toate categoriile de femelele a fost de 71,01%, iar a sezonului rece de 77,14%.

9. În sezonul de toamna-iarnă femelele primipare au înregistrat o rată medie a concepției de 81,25% mai ridicată cu +6,25% față de multipare, aceste având o fecunditate de 75%.

10. În ceea ce privește efectul anotimpului rece asupra ratei concepției se observă că inseminările efectuate toamna au fost mai eficiente decât cele efectuate în perioada de iarnă, oferind posibilitatea înregistrării unei RC superioară cu 6,2%.

11. Comparând cele două sezoane primăvara-vară, se constată că în sezonul de primăvară rata concepției a avut o valoare superioară, +12,2% la vițele, +24,7% la primipare, și +21% la multipare.

12. Protocolul Ovsynch nu este eficient în timpul sezonului estival, dar administrarea de progesteron timp de 7 zile între primul tratament GnRH și PGF2 alfa crește fertilitatea.

13. 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.

10. MODALITĂȚI DE CREȘTERE A VALORII POTENȚIALULUI GENETIC LA BIVOLIȚE PRIN UTILIZAREA BIOTEHNOLOGIILOR DE REPRODUȚIE

10. POSSIBILITIES OF INCREASING THE VALUE OF GENETIC POTENTIAL IN BUFFALOS BY USING REPRODUCTIVE BIOTECHNOLOGIES

Îmbunătățirea genetică este un proces dinamic care trebuie să evolueze în timp, sprijinind și răspunzând nevoilor crescătorilor, pieței și contextului local în care operează companiile.

10.1. Material și metodă

Aportul genetic și obținerea de individe cu calitatea producției superioară se poate face în decurs de câteva generații prin protocoale de ameliorare cunoscute, clasice folosind la reproducție prin montă dirijată doar animale cu productivitate validată. Datorită faptului că populația de bivolițe este redusă și valoarea productivă scăzută s-au ales ca măsură de ameliorare și progres genetic în șeptelul de bivolițe, biotehnologiile de reproducție moderne și actuale, și anume inseminarea artificială (IA) și embriotransferul (ET).

Înseminarea artificială (IA) poate însemna o îmbunătățire semnificativă a progresului genetic la bivoli, aplicarea sa practică a fost dificilă datorită exteriorizării scăzute a estului și a detectării sale de către om, a duratei variabile a estrului și a dificultății de a prezice momentul ovulației. Mai recent, dezvoltarea protocoalelor pentru sincronizarea ovulației și planificarea IA la bivoli a fost utilizată pentru a depăși aceste constrângeri și pentru a putea folosi IA pe scară largă.

Deoarece numărul bivolilor din România scade continuu în ultimii ani, aplicarea biotehnologiilor reproductive actuale la aceste rase este limitată. Cu toate acestea, aceste IA sunt folosite ocazional în ferme private mici. În Italia, țara consacrată cu tradiție, în producția de bivolițe din lapte, IA are cea mai extinsă utilizare, dar o mare parte a fermelor încă mai folosesc tauri.

Astfel, prin organizarea și aplicarea biotehnicii de însămânțare artificială s-a încercat creșterea vițelilor de înlocuire folosind material seminal sexat și testat genomic.

Cercerările privind însămânțarea artificială la bivoliță au fost efectuate la ferma "Terra di Bufala" pe bivolițe din rasa Mediteraniană, varietatea Bivolul Românesc Indigen.

Datorită faptului că proprietarul, la momentul studiilor, avea în vedere dezvoltarea unei microferme și procesarea laptelui de bivoliță s-a dorit dezvoltarea unui nucleu de femele cu potențial genetic crescut, acest nucleu să fie baza genetică a microfermei.

Folosirea în fermă pentru IA a materialului seminal sexat pune în valoare aspectul genetic crescut al taurului prin spermatozoizi purtători de cromozom XX (femeli) și purtători ai unor caractere productive ereditare cunoscute și identificate prin markeri genetici.

Pentru a obține la parturiție un număr de femele mai mare și cu valoare genetică productivă au fost achiziționate doze de material seminal sexat de la doi bivoli testați genomic de la: Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina: Oro Mediterraneo și Anton del Parco (tabelul 10.1).

Tabelul 10.1

Indici morfologici la bivoli luați în studiu

Table 10.1

Morphological indices in the buffaloes studied

Numele bivolului	ID	Sexat	Geno-tipat	Valoarea morfologica (puncte)	Indice PKM	Indice lapte
Oro Mediterraneo	IT059990127603	F	Da	84	98,21	426,42
Anton del Parco	IT071990106584	F	Da	82	52,58	167

Prin utilizarea materialului seminal de la acești doi bivoli s-a urmărit transferarea caracterelor morfologice și productive de la mamele lor (din ascendență) bivolițelor din ferma luată în studiu

Utilizând caracterele producției de lapte, Altiero și col. (1989) au găsit o posibilitate de aflare a cantității de Mozzarella, utilizată în programul de evaluare genetică din Italia:

$PKM = MY * \{[(3,5 * \%P) + (1,23 * \%F) - 0,88] / 100\}$ în care

PKM = producția estimată de Mozzarella în kg

MY = cantitatea de lapte

%P = procentul de proteină

%F = procentul de grăsime.

Criteriile importante în evaluarea morfologică a bivolițelor sunt grupate în categorii de statură, diametre longitudinale și transversale, lungimea membrelor și rezistența copitelor, glanda mamară.

După cum se observă în fig. 10.1, ereditatea caracteristicilor variază mult, astfel putem spune că, cu cât valorile calculate ale eredității trăsăturilor

morfologice sunt mai mari cu atât mai rapide sunt schimbările genetice ale trăsăturilor respective. Ereditatea scăzută corespunde unei îmbunătățiri genetice mai lente.

Trăsăturile DC, FOPA, LAAM și ARTP sunt trăsături cu ereditate redusă și acest lucru se observă în populațiile de bivoli, deoarece multe animale au aceste caracteristici negative. Dimpotrivă, STAT, PG și AM sunt trăsături care se îmbunătățesc mai repede. Trăsăturile cu ereditate redusă trebuie luate în calcul pentru ameliorare.

La o evaluare morfologică a unui bivol caracteristicile din fig. 10.1 sunt grupate pentru a putea nota cele patru trăsături enumerate mai jos și care dau evaluarea finală a animalului.

- SRT reprezintă evaluarea tuturor trăsăturilor care identifică structura unui bivol.
- ARTP reprezintă evaluarea tuturor trăsăturilor picioarelor și ongloanelor unui bivol.
- PP reprezintă evaluarea tuturor trăsăturilor care influențează capacitatea de producție a unui bivol.
- AM reprezintă evaluarea tuturor trăsăturilor sistemului mamar al unei bivolițe.
- PG reprezintă evaluarea generală sau finală a animalului care conține diferite așteptări, toate trăsăturile componente. Rezultatul tuturor acestor evaluări ne ajută să înțelegem cât de aproape este animalul de modelul nostru ideal (fig. 10.2 și fig. 10.3).

MORPHOLOGY TRAITS			TRĂSĂTURI MORFOLOGICE		
		Heritability h ²			HERITABILITATE H ²
PG	General Score	0,33	PG	Scor general	0,33
STR	Structure	0,25	STR	Structură	0,25
ARTP	Feet & Legs	0,19	ARTP	Picioare și copite	0,19
PP	Dairyness	0,20	PP	Lactație	0,20
AM	Udder Composite	0,30	AM	Compoziția ugerului	0,30
STAT	Stature	0,39	STAT	Statură	0,39
AT	Chest High	0,23	AT	Înălțimea pieptului	0,23
LT	Body Length	0,20	LT	Lungimea corpului	0,20
FOPA	Fetterlock Strength	0,17	FOPA	Forța Fetterlock	0,17
LAAM	Front Udder Attachment Length	0,18	LAAM	Lungimea de atașare a mamelonelor anterioare	0,18
LAPM	Rear Udder Attachment With	0,24	LAPM	Atașarea posterioară a ugerului	0,24
DPG	Distance to the Hock	0,27	DPG	Distanța dintre uger și jaret	0,27
DC	Teats Direction	0,15	DC	Direcția mameloanelor	0,15
LC	Teats Length	0,21	LC	Lungimea mamaloanelor	0,21

Fig 10.1 Valori ale heritabilității trăsăturilor morfologice la bubaline luate în considerare de Asociația Națională a Crescătorilor de Bivoli din Italia

Fig. 10.1 Values of heritability of morphological traits in buffaloes taken into account by the National Association of Buffalo Breeders in Italy

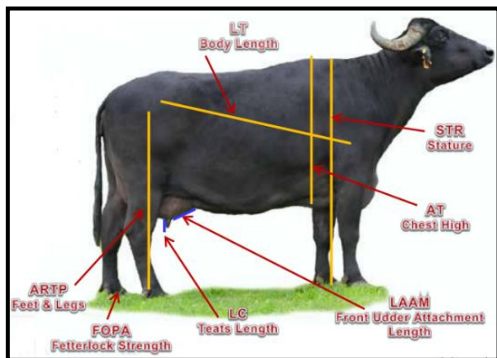


Fig. 10.2 Caracteristici morfologice ale trasăturilor la bivol - vedere laterală
(www.cofa-it.com/Cataloghi)

Fig. 10.2 Morphological characteristics of buffalo traits, lateral vision

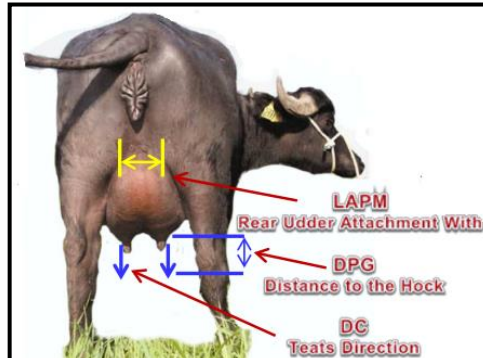


Fig. 10.3 Caracteristici morfologice ale trasăturilor la bivol - vedere caudală
(www.cofa-it.com/Cataloghi)

Fig. 10.2 Morphological characteristics of buffalo traits, caudal vision

Evaluarea genetică și indicii obținuți sunt folosiți în selecția mamelor taur și a planurilor de reproducere. Ipoteza de bază este că o morfologie particulară este asociată cu o durată mai mare și cu o funcționalitate și o productivitate mai mare a bivolului, așa cum arată numeroase studii pe această temă (Nicolae Ioana, 2017).

10.2 Cercetări privind însămânțarea artificială la bivoliță

Întrebuințarea protoalelor hormonale asociate cu FTAI (inseminare artificială programată) face ca reproducția la bivolițe să fie mai avantajoasă și practică, în special, în timpul sezonului cu inactivitate sexuală sau activitate sexuală redusă (Baruselli, 2001).

Temperaturile crescute au un efect negativ asupra funcției ovariene și a fertilității la bivolițe. Efectele fiziologice ale hormonilor pot fi influențate de vârstă bivoloțelor, de hrana administrată acestora, de condiția fizică și de variațiile anotimpurilor. În consecință, a fost dezvoltată o nouă metodă, numită Ovsynch, cu scopul de a sincroniza ovulația, combinând GnRH și PGF2 α . Această metodă a sincronizat ovulația în 8 ore, comparativ cu 24 - 28 de ore după a doua doză de GnRH.

10.2.1 Utilizarea protocolului Ovsynch și FTAI unicornuală cu material seminal sexat

Pentru sincronizarea estrului în vederea utilizării însămânțării artificiale s-a aplicat protocolului Ovsynch la un număr de 20 de bivolițe multipare, la peste 60 de zile postpartum și aflate în perioada de lactație. Au fost create

două loturi de câte 10 bivolițe, care au fost alocate pentru IA utilizând material seminal provenit de la taurii Oro și Aton.

Materialul seminal a fost achiziționat, transportat și păstrat în condiții optime, de la S.C. Genomix, importator COFA și Associazione Nazionale Allevatori Specie Bufalina din Italia.

Din punct de vedere al sezonității, bivolițele se aflau la sfârșitul sezonului de reproducție, reprezentat de lunile februarie – martie 2017.

Lotul de bivolițe a fost alcătuit după o minuțioasă examinare generală și ginecologică, ulterior s-a început protocolul terapeutic Ovsynch (Gn-RH, PGF, Gn-RH) (fig. 10.4). Conform protocolului, femelele au primit în ziua zero și nouă, 0,01 mg acetat de buserelină (Receptal®) și PGF2α au primit în a cincea zi, - cloprostenol 500 μg.IM (Estrumate®).

Scorul mediu corporal a fost de 3, femelele aveau un uter complet involuat și sănătos. Ovarele nu au prezentat formațiuni patologice, iar dimensiunea lor medie a fost de 2 cm. De asemenea, nici un corp luteal nu a fost prezent la începutul protocolului.

Pentru a preveni risipa, au fost inseminate doar bivolițele care erau cel puțin interesate de taur și care aveau un folicul dominant (DF) pe unul din ovare (cel puțin 0,9 mm) depistat ecografic. IA a fost efectuată la 18 ore după a doua injecție cu Gn-RH (programată), cu depunerea spermei sexate doar în cornul uterin congener ovarului purtător de folicul dominant.

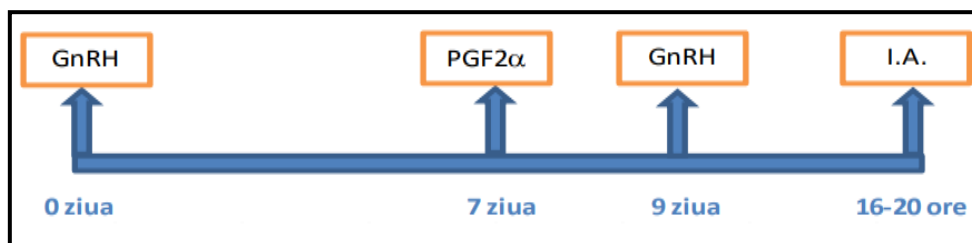


Fig. 10.4 Schema protocolului de sincronizare Ovsynch a estrului la bivolițele (C.O.F.A.)

Fig. 10.4 Schematic, the Ovsynch protocol of the estrus buffaloes (C.O.F.A.)

Răspunsul ovarian în urma stimulării Ovsynch a avut rezultate bune datorită selectării femelelor anterior începerii protocolului și a perioadei din an, fiind la finalul sezonului de reproducție. În literatura de specialitate se precizează că estru la bivolițe este ciclic și mai evident la femelele pluripare.

Din cele 20 de bivolițe care au intrat în experiment au fost inseminate doar 15 bivolițe (75%) care au manifestat semne clinice de estru la testarea cu masculul încercător și care în urma examinării ultrasonografice a ovarelor s-a vizualizat un folicul dominant.

Acest procent este influențat și de biostimularea efectuată de malacii încercători situați în boxa vecină. Pe categorii de tauri, 8 (80%, 8/10) bivolițe au fost inseminate cu material seminal sexat de la Oro, iar 7 (70%, 7/10) bivolițe cu Aton (tabelul 10.2).

Tabelul 10.2

Rezultatele efectării IA după sincronizarea estului cu protocolul Ovsynch

Table 10.2

The results of performing IA after synchronization of estrus with the Ovsynch protocol

Tauri IA		Bivolițe Ovsynch		Estru / IA		Gestație (RC)		Fătare	
		Nr	%	Nr	%	Nr	%	Femele	Masculi
1	Oro	10	100	8	80	4	50	4/4 (100%)	0/0 (0%)
2	Aton	10	100	7	70	5	71,4	4/5 (80%)	1/5 (20%)
Total / Medie		20	100	15	75	9	60	8/9 (88,8%)	1/9 (11,1%)

În ceea ce privește diagnosticul de gestație acesta a fost făcut ecografic la 45 - 50 de zile de la IA și reconfirmat la 60 de zile.

Rata concepției totală a protocolului de Ovsynch cu IA sexată raportată la numărul de insamănțări efectuat a fost de 60%, fiind diagnosticate gestante un număr de 9 bivolițe din 15. Pe categorii de tauri procentele au fost 50% la Oro (4/8) și 71.4% la Aton (5/7).

Comparând rata concepției (60%) obținută în urma efectuării acestui experiment cu datele din literatura de specialitate putem spune că aceasta este mai mare față de rezultatele obținute de alți autori. De exemplu, De Araujo Berber RC, ș.a. în 2002, folosind protocolul Ovsynch, au raportat o rată a concepției la inseminarea artificială de 56,5% în timpul sezonului de împerechere. Dat fiind faptul că a fost aplicată biotehnica de însămănțare artificială pentru prima dată în aceasta fermă și că s-a folosit material seminal cu valoare genetică ridicată, rezultatul obținut ne conferă perspective de dezvoltare și progres genetic privind bivolul indigen.

Utilizând protocolul Ovsynch, Baruselli (2001) a avut o rată a concepției de 48,8% la bivolițele inseminate în timpul sezonului de împerechere (toamnă-iarnă) și de 6,9% la cele inseminate în timpul sezonului de neîmperechere. Alți autori au raportat o rată a concepției la inseminarea artificială care variază între 36,0% și 42,55% dacă este folosit în perioada în care estrul nu este prezent (Neglia ș.a., 2009).

La parturiție au fost obținuți 9 fetuși vii și viabili din care raportul dintre sexe a fost de 88,8% femele. Doar la taurul Aton a fost obținut un singur mascul.

Afirmăm că obiectivul de creștere a potențialului genetic la bivolițe prin folosirea înșămânțării artificiale cu material sexat devine realizabil.

10.2.2 Implementarea înșămânțării artificiale în ferma BRADANO RIVER

În luna iulie (extrasezon), anul 2017 a fost organizat un studiu privind aplicarea biotehnologiilor de reproducție la bivoliță la societatea Bradano River din Irsinia – Italia. Materialul biologic a fost reprezentat de 41 de bivolițe din linia Mediteraniana, exploatate pentru producția de lapte. Toate femelele au fost pluripare, aflate în lactație și se prezentau într-o stare bună, fiind în puerperium târziu (60 - 80 zile PP).

Metoda de inducere a estrului a constat în aplicarea protocolului Ovsynch și fixarea (programarea) timpului (momentului) de înșămânțare (FTIA) la 16 - 20 de ore după cea de-a doua administrare de GnRH.

Tehnica de înșămânțare folosită a fost metoda clasică Anglo-Saxonă, prin reperarea cervixului transrectal și pasajul acestuia bimanual cu ajutorul pistolului Cassou. Pentru a preveni contaminarea bacteriană a pipetei a fost folosită și o cămasă de protecție din material plastic.

S-a folosit material seminal congelat în paiete de 0,25 ml cu 10 - 18 milioane spermatozoizi, provenit de la Centrul Operativ de Inseminări Artificiale C.O.F.A. Cremona, Italia.

Toate bivolitele, înainte de inseminare, au fost examinate ecografic cu TringaVet, și s-a constatat că pe unul din ovare era dezvoltat un folicul matur. Dimensiune foliculilor a variat de la 0,8 la 2 cm, ceea ce demonstrează că aplicarea protocolului de stimulare a estrului a funcționat, ducând la creșterea și maturarea unui folicul ovarian.

Cu toate că pe ovare au fost identificați foliculi dominanți, nu toate femelele au manifestat și semne clasice de estru. La momentul experimentului în locația fermei temperatura medie a fost caniculară. Semnele comportamentale legate de exprimarea libidoului și apetitul pentru hrană nu a fost modificate evident la bivolițe în momentul înșămânțării. O mică parte dintre acestea au prezentat modificări locale ca evidențierea mucusului de călduri, dar în cantități moderate, și un grad moderat de congestie vaginală (fig. 10.5).

Manopera de înșămânțare a fost uneori dificilă deoarece uterul devenea hiperkinetic și tonic dacă procedura dura mai mult de 2 - 3 minute.

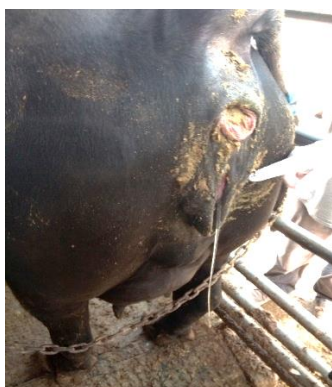


Fig.10.5 Bivolită cu scurgeri estrale moderat cantitativ

Fig.10.5 Buffalo with moderately quantitative estrous discharge



Fig.10.6 Padocuri cu umbrare, sistem de ventilare și dușare pentru bivolițe

Fig.10.6 Shovel paddocks, ventilation and shower system for buffaloes

Conform protocolului au fost inseminate toate cele 41 de bivolițe cu s-au fără manifestări clinice estrale. Diagnosticul de gestație a fost stabilit la 35 de zile după inseminare prin ecografie, când au fost diagnosticate 20 de bivolițe gestante din 41, rata gestației a fost de 48,8%.

Din punct de vedere climatic, în perioada desfășurării protocolului temperatura ambientală pe timpul zilei a măsurat 42°C, fiind fără precipitații, această climă persista de peste 30 de zile. Pentru a contracara efectele negative ale climei, în padocuri și pe aleele de serviciu au fost amplasate aspersoare cu apă și ventilatoare (fig. 10.6).

10.2.3 Aplicarea însămânțării artificiale în S.C.D.C.B. Șercaia

Protocolul fermei Stațiunii de Cercetare și Dezvoltare pentru Creșterea Bubalinelor Șercaia, Brașov (S.C.D.C.B. Șercaia), în ceea ce privește însămânțare artificială este de a aplica aceasta biotehnică doar în sezonul rece.

Managementul fermei folosește la IA doar loturile de femele sănătoase clinic și ginecologic și cu stare de întreținere bună, cu un scor corporal de 3 - 4. Din experiențele anterioare, în perioada de stabulație și datorită sezonality bivolitelor, manifestarea fazei estrale este foarte scăzută. Pentru a nu avea pierderi economice S.C.D.B. Șercaia folosește un protocol de inducere a estrului bazat pe inducerea luteolizei cu PGF2α.

Din categoria bivolițelor negestante, cu o perioadă puerperală de peste 60 de zile și sănătoase din punct de vedere clinic și ginecologic au fost selectate un număr total de 34 bivolițe în cei doi ani de studiu 2017 și 2018.

În anul 2017 au fost selectate pentru inducerea estrului 11 bivolițe, iar în anul 2018, 23 de bivolițe. Aceste femele selectate pentru aplicarea protocolului de inducere a estrului aveau pe unul din ovare un corp luteal în

faza active - de eflorescență. Doar în această fază CL este secretor și produce progesteron poate fi diagnosticat clinic prin palpate transrectală (ETR).

Însămânțarea artificială a fost efectuată de către un tehnician-operator cu experiență, prin metoda bimanuală tactil-recto-cervicală. Materialul seminal utilizat a fost preluat de la Oficiu de Ameliorare în Reproducție și Zootehnie din regiunea Făgărașului. Materialul seminal avea proveniență italiană, din tauri de bivoli din linia Mediteraneană, cu caracteristici valoroase.

Diagnosticul de gestație a fost pus prin metode clinice transrectale după 80 de zile de la IA. Uneori diagnosticul de gestație se suprapunea cu examenul ginecologic programat la ieșirea din stabulație.

În urma tratamentului pentru inducerea luteolizei cu preparatul Proliz în doză de 2 ml administrat i.m. (cloprostenol 0,2 mg/ml soluție injectabilă) 81,82% bivolițe au răspuns la terapie în anul 2017 (9 bivolițe) și 52,17% bivolițe în anul 2018 (12 bivolițe).

Din totalul bivolițelor însămânțate artificial s-a ajuns ca rata concepției pentru perioada luată în studiu să fie de 33,3% (3/9) pentru anul 2017, iar pentru anul 2018 de 50% (6/12) (tabelul 10.3).

La S.C.D.B. Șercaia biotehnica însămânțărilor artificiale are o pondere foarte scăzută în ceea ce privește managementul reproducției. Datorită protocolului de organizare și funcționare a fermei, IA are un caracter sezonier și se aplică doar în sezonul rece. În perioada de primăvară-toamnă se practică monta naturală liberă pe pășune, iar în perioada de iarnă monta cu taurii de bivoli aflați în stabulație este interzisă pentru a înlătura producerea accidentelor.

Tabelul 10.3

Rezultatele efectării IA după sincronizarea estului prin luteoliză

Table 10.3

The results of performing I.A. after synchronization of the east with the luteolysis protocol

IA	Bivolițe		Estru-/IA		Rata concepției		Fătare		Rata fătării*	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Femele	Masculi	Nr.	%
2017	11	100	9	81,8	3	33,3	2/3 (66,6%)	1/3 (33,3%)	3/11	27,3
2018	23	100	12	52,2	6	50	4/6 (66,6%)	2/6 (33,3%)	6/23	26,1
Total-/Medie	34	100	21	61,8	9	42,9	6/9 (66,6%)	3/9 (33,3%)	9/34	26,5

*Rata fătării raportată la numărul de femele la care s-a aplicat protocolul de luteoloză

Rezultatele inducerii estrului în stabulație utilizând PGF2α pentru toată perioada luată în studiu (2017-2018) 61,8% dintre femele au intrat în călduri

(21/13). Rata fătării raportată la numărul de bivolițe cărora li s-a aplicat protocolul de luteoloză a fost în medie de 42,3% (9/34), iar pe ani de 27,3% (3/11) în 2017 și de 26,1% (6/23) în anul 2018.

Referitor la sexul produșilor obținuți din I.A. în perioada de stabulație permanentă perioada anilor 2017 și 2018, 33,3% (3/9) din totalul produșilor obținuți este reprezentat de masculi, în timp ce femelele reprezintă 66,6% (6/9) din numărul produșilor de concepție.

10.3 Cercetări privind biotehnica embriotransferului la bivoliță

Biotehnica embryo-transferului se bazează pe exploatarea și transmiterea la descendenți a caracterelor productive ale femelelor. Practic se dorește obținerea mai multor produși de la o femelă superioară din punct de vedere productiv și reproductiv într-un timp cât mai scurt.

Un embriotransfer prin tehnica *in vivo* cu succes necesită manipularea estrului și a ovulației donatoarei și sincronizarea acestora cu cele ale receptoarei.

Pentru majoritatea speciilor, protocoalele de FIV sunt disponibile și oferă cantități mari și suficiente de ovule fertilizate, ducând la o producție de embrioni viabili care se pot dezvolta într-un produs de concepție normal după transferul la femelele receptoare. Biotehnica manipulării ovocitelor animale și umane este o etapă esențială în procesul de fertilizare *in vitro* și rezultatele acestuia sunt dependente de calitatea gameților femeli. Această etapă se bazează pe producția de embrioni utilizați pentru cercetare, pentru tratarea infertilității la oameni și animale, pentru creșterea productivității la animalele de fermă și pentru protejarea speciilor pe cale de dispariție.

10.3.1 Protocoale de embriotransfer *in vivo* la bivoliță

Au fost efectuate protocoale de embryo-transfer la bivolițe între anii 2017 – 2019 care au vizat punerea în valoare a femelelor cele mai productive din ferme la momentul respectiv.

Transferul de embrioni *in vivo* reprezintă procesul prin care mai mulți embrioni sunt extrași de la nivelul coarnelor uterine ale unei bivolițe donatoare, cu caracteristici morfo-productive superioare, și transplantați în uterul mai multor bivolițe receptoare care vor purta gestația până la termen.

Tehnica transferului de embrioni presupune parcurgerea următoarelor etape: selecția și pregătirea bivolițelor donatoare; selecția și pregătirea bivolițelor receptoare; sincronizarea estrului și ovulației la bivolițele donatoare și receptoare; inducerea poliovulației și însămânțarea artificială a bivolițelor

donatoare; recoltarea embrionilor; conservarea embrionilor; transferul embrionilor.

Selectarea bivolițelor donatoare. Acestea trebuie să fie femele de mare valoare, care să justifice investiția, selecția făcându-se pe baza criteriilor genotipice și fenotipice, după performanțele descendenților. Ele trebuie să fie femele sănătoase din punct de vedere reproductiv cu un aparat genital normal, în puerperium fiziologic, trebuie să aibă cicluri regulate (18 - 24 zile) și să fie la 60 de zile postpartum. În general, bivolițele care au în istoric afecțiuni reproductive, nu vor fi selectate ca donatoare.

Poliovulația donatoarelor. Poliovulația este procesul prin care se stimulează eliberarea în cadrul aceluiași ciclu a unui număr mai mare de ovule comparativ cu numărul caracteristic speciei. Principiul acestei etape constă în administrarea uneia sau mai multor doze de hormoni foliculo-stimulatori (FSH sau PMSG) pe fondul unui corp luteal pe ovar (producător de progesteron), care este luteolizat de o PGF2 α și suplimentarea hormonului de luteinizare (LH sau HCG) pentru a stimula fenomenul ovulator.

Recoltarea embrionilor. S-a folosit metoda flusing-ului de prelevare a embrionilor, a cărei principiu constă în spălarea coarnelor uterine cu un mediu special preparat, spălare care se realizează în condiții de asepsie în ziua 6 – 7 de la însămânțare (fig. 10.7).

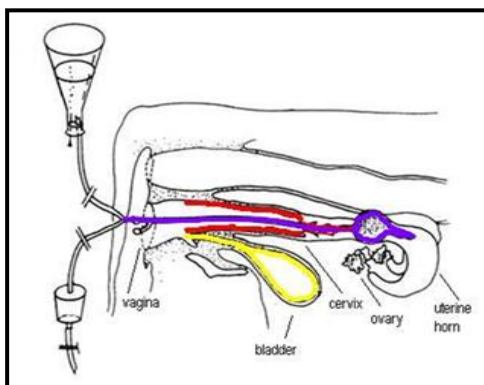
În condițiile de fermă, recoltarea embrionilor s-a făcut într-un spațiu special destinat, după contenția adecvată, s-a leagat coada animalului, s-a făcut toaleta și dezinfecția regiunii perivulvare. Pentru a suprima durerea, s-a efectuat anestezia epidurală cu 4 - 6 ml Procaină 2%, care blochează nervii coccidieni și ultimele perechi de nervi sacrali (S3, S4, S5).

Următorul pas a fost aprecierea răspunsului femelei la tratamentul poliovulator, s-au examinat cu atenție ambele ovare și s-au numărat corpii luteali, ecografic.

Ulterior s-a introdus cateterul de tip Folley cu două sau trei căi cu mandren, prin conductul cervical până în cornul uterin. Cateterul s-a introdus circa 5 - 8 cm de la cervix după bifurcația coarnelor uterine, pe unul dintre acestea, apoi s-a introdus de la exterior, cu seringă, 8 - 15 ml de aer în scopul fixării cateterului și pentru a împiedica refularea prin cervix a lichidului de spălare. Etapele au fost ghidate ecografic pentru garantarea reușitei tehnice (fig 10.8 și fig. 10.9).

Recipientul ce conține lichidul de spălare s-a suspendat la 2 m de la sol și, prin cădere, acesta a ajuns printr-o cale de admisie a cateterului cu două căi la care s-a adaptat o piesă în forma literei y, în coarnele uterine. Irigarea acestora s-a făcut continuu, calea de evacuare a lichidului fiind conectată, printr-un tub de plastic, la vasul de colectare a mediului recuperat.

Cantitatea de mediu care s-a folosit pentru spălarea unui corn uterin a fost de 300 - 500 ml făcându-se irigații repetate și un masaj transrectal permanent al cornului uterin spălat. După prelevarea embrionilor, vasul cu lichidul recoltat (100 - 150 ml) a fost lăsat timp de 20 - 30 minute pentru decantare.



A.



B.

Fig. 10.7 Metoda de recoltare a embrionilor prin flushing; A. schematic; B. original

Fig. 10.7 Method of harvesting embryos by washing; A. sketch; B. original



Fig. 10.8 Pasajul cervixului cu cateter. Se observă stiletul în interiorul corpului uterin

Fig.10.8 Passage of the cervix

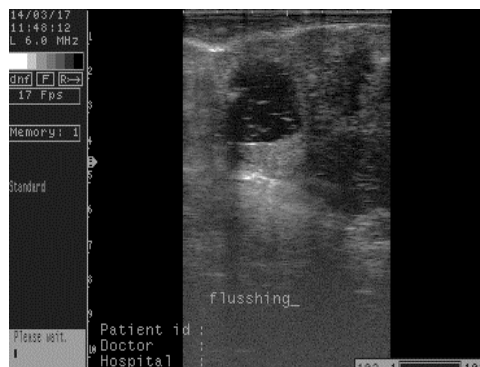


Fig. 10.9 Efectuarea flushing-ului pe vârful cornului uterin

Fig 10.9 Flushing in the uterus horn.

Examenul embrionilor în lichidul recoltat s-a făcut în condiții de asepsie, igienă și la o temperatură constantă de 20 - 25°C. Embrionii bovinelor au un diametru de 150 - 190 micrometri, zona lucidă având o grosime de 12 - 15 μm. Pentru identificarea embrionilor, s-a examinat la o stereolupă (magnificație 30 - 60 uneori 80 - 200).

După identificare embrionii au fost pasați în microplăci cu embrionholding, un mediu ce asigura conservarea embrionilor pe timp scurt.

Embrionii de bivoliță au fost evaluați după mai multe criterii folosite la evaluarea embrionilor de bovine, conform manualului IETS 2020. Aceste criterii

sunt următoarele: regularitatea formei embrionului. gradul de compactare al celulelor, uniformitatea blastomerelor, culoarea și textura citoplasmei, diametrul embrionului, prezența celulelor desprinse, regularitatea zonei pelucida, prezența de vezicule în citoplasmă.

În urma unor cercetări publicate în *Bubaline Theriogenology IVIS* (2015) și Hafez, (2010) dezvoltarea embrionilor la 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 blastocist expandat, în timp ce același stadiu este atins la bubaline în ziua a 6-a de dezvoltare (fig.10.10).

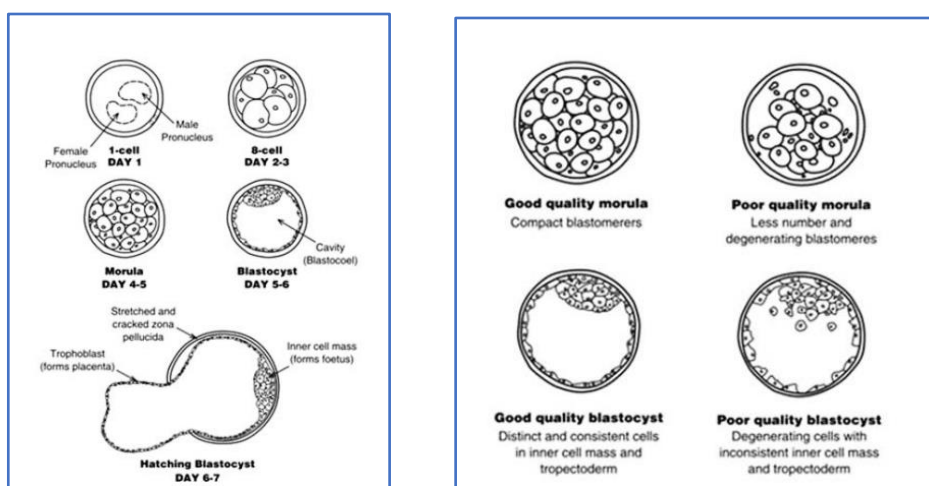


Fig. 10.10 Stadiile de dezvoltare ale embrionului bubalin (Hufana-Duran și Duran, 2015).

Fig. 10.10 Developmental stages of the buffalo embryo (IVIS)

Manualul IETS (2020) explică că evaluarea vizuală a embrionilor este subiectivă și nu este considerată o știință exactă. În general se folosesc doar embrionii de cod 1, dar se pot folosi și cel de cod 2 dacă se ajunge la un consens cu proprietarul.

După identificarea și selectarea embrionilor aceștia au fost încărcărați în paiețe de 0,25 ml și cu ajutorul unui pistol de tip Cassou s-au depus în cornul uterin al bivolițelor receptoare corespunzător ovarului care are CL.

Selecția și pregătire receptoarelor. Receptoarele selectate pentru transferul embrionilor obținuți prin poliovulație au fost bivolițe sănătoase din punct de vedere reproductiv, cu vârstă de aproximativ 20 de luni, cu un scorul de masă corporală de 3 - 4.

Pregătirea receptoarelor constă într-o sincronizare cât mai perfectă a ciclului sexual cu cel al bivoliței donatoare, momentul ET trebuie să fie la aceeași vârstă cu embrionul (6 zile după estru) (fig.10.11).

Transferul propriu-zis al embrionilor la bivolițele receptoare s-a realizat prin metoda nechirurgicală. Această metodă folosește calea vagin-cervix, asemănător însămânțării artificiale. Pentru transfer s-a folosit un pistol tip Cassou, dar mai lung și mai subțire, în care s-a introdus paieta cu embrionul proaspăt recoltat. Pentru a se evita contaminarea învelișului din material plastic al pistolului Cassou pe timpul traversării conductului vestibulo-vaginal, s-a fixat un al doilea înveliș din material plastic care este secționat pe toată lungimea sa. După ce pistolul a ajuns în lumenul cervical, acest înveliș protector s-a retras. La circa 10 cm de bifurcație, pe cornul uterin corespunzător ovarului ce conține corpul luteal, s-a depus embrionul. Această metodă este exclusiv folosită în prezent. În vederea relaxării cervixului, a evitării contracțiilor organelor genitale s-a efectuat anestezia epidurală cu 4 - 6 ml Procaină 2%.

La 45 de zile după realizarea embriotransferului s-a făcut diagnosticul de gestație în vederea stabilirii reușitei protocolului.

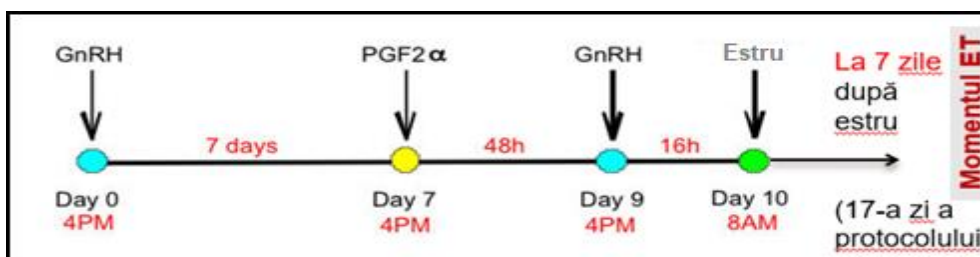


Fig. 10.11 Sincronizarea receptoarelor și momentul ET

Fig. 10.11 Receiver synchronization and ET timing

Experiment 1 ferma Terra di Bufala Războieni

În data de 25 februarie 2017 a fost inițiat un protocol de poliovulație la bivolița nr 8869. La acest experiment nu au fost sincronizate și bivolițele receptoarele conform procedurii complete de embriotransfer. Bivolița a prezentat semne spontane de estru în urma cărora monta nu a fost efectuată. Ulterior, la 7 zile a fost diagnosticat pe ovarul drept un corp luteal, în fază de eflorescență.

După 11 zile de la estru (8 martie) a fost inițiată schema de poliovulație cu cinci zile de administrări de Pluset, de două ori pe zi în doză descrescândă (Pluset 1000 UI, 10 ml soluție reconstituită) (fig. 10.12).

Odată cu administrare de Pluset de la ora 20:00 a fost administrată și o doză de PGF2α (2 ml PGF Veyx Forte). Estru a debutat la 48 de ore. S-a efectuat monta dirijată cu taurul ION, nr. 08864 originar (Șercaia).

După 6 zile femela de bivoliță a fost examinată ginecologic și imagistic identificându-se doar trei corpi luteali pe ovarul stâng. Dimensiunea ovarelor a fost de 6/5 cm ovarul stâng și de 2/1 cm ovarul drept.

Nu a fost posibilă recuperarea embrionilor deoarece la pasajul cervixului s-a produs o perforare a uterului lezionând structurile endometriale ceea ce a făcut ca experimentul să se oprească.

Apreciem un răspuns slab la tratamentul cu Pluset al ovarelor de bivoliță deoarece au produs ovulația doar a trei foliculi pe ovarul stâng. Menționăm că protocolul de poliovulație a fost efectuat începând din ziua a 11-a a ciclului sexual.

Ziua 1: ora 8.00 3 ml (150 UI FSH + 150 UI LH);
ora 20.00 3 ml (150 UI FSH + 150 UI LH).
Ziua 2: ora 8.00 2,5 ml (125 UI FSH + 125 UI LH);
ora 20.00 2,5 ml (125 UI FSH + 125 UI LH).
Ziua 3: ora 8.00 2 ml (100 UI FSH + 100 UI LH);
ora 20.00 2 ml (100 UI FSH + 100 UI LH) + 2ml Cloprostenol (PGF Veyx Forte).
Ziua 4: ora 8.00 1,5 ml (75 UI FSH + 75 UI LH);
ora 20.00 1,5 ml (75 UI FSH + 75 UI LH).
Ziua 5: ora 8.00 1 ml (50 UI FSH + 50 UI LH);
ora 20.00 1 ml (50 UI FSH + 50 UI LH).
Ziua 1 corespunde zilei 11 a ciclului estral.

Fig. 10.12 Protocolul de sincronizare al ovulației donatoarelor cu Pluset

Fig. 10.12 Ovulation synchronization protocol with Pluset

Recuperarea donatoarei s-a produs fără complicații, după 30 de zile a fost identificat ecografic evoluția unui nou val follicular, fără elemente de patologie ovariană.

Experiment 2 ferma Terra di Bufala Războieni

În iulie 2017 a fost demarat un nou studiu privind producerea de embrioni bubalini *in vivo*.

Au fost selectate două donatoare, bivolița cu numărul matricol 8043 la a doua lactație și cu peste 60 zile postpartum la care s-a administrat următorul tratament de poliovulație: PRID DELTA 11 zile în asociație cu PG-PMSG (fig. 10.13) și bivolița care poartă numărul matricol 2013, la prima lactație, căreia i s-a aplicat tratamentul de poliovulație PRID-DELTA 11 zile – PG- FSHp (fig. 11.14). În momentul apariției estrului s-a efectuat monta dirijată a celor două donatoare.

Bivolița cu numărul 8043 care a primit PMSG 2500 U.I. a avut o reactivitate bună la tratament obținându-se în ziua flusingului patru embrioni. Aceștia au fost transferați la patru femele receptoare sincronizate și în urma diagnosticului de gestație efectuat la 45 de zile de la ET s-a stabilit că o singură receptoare a fost gestantă.

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.

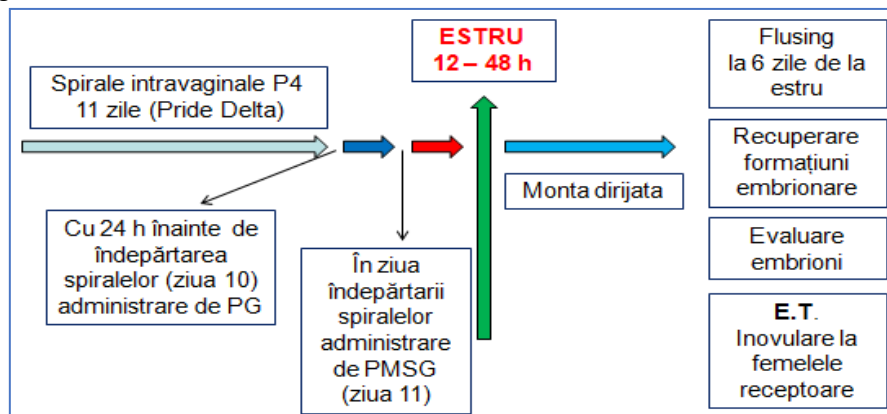


Fig. 10.13 Protocolul de sincronizare al ovulației donatoarelor cu Spirale PRIDE DELTA-PG-PMSG

Fig. 10.13 Ovulation synchronization protocol with PRIDE DELTA-PG-PMSG

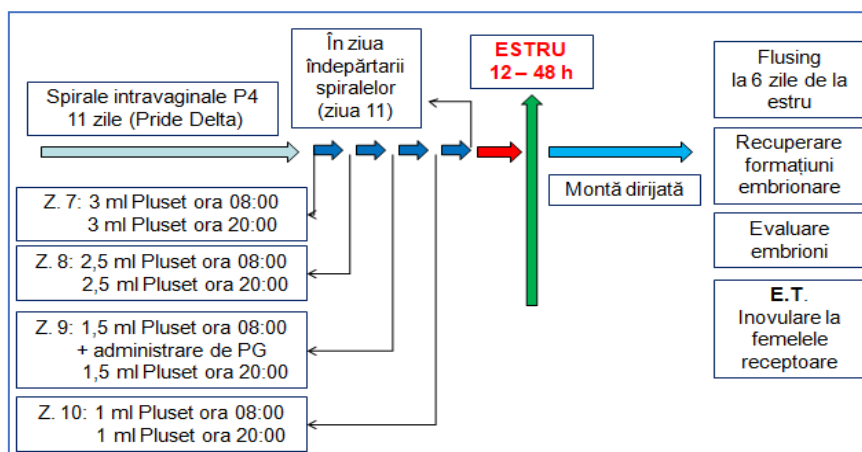


Fig. 10.14 Protocolul de sincronizare al ovulației donatoarelor cu Spirale PRIDE DELTA-PG-PLUSET

Fig. 10.14 Ovulation synchronization protocol with PRIDE DELTA-PG-PLUSET

Bivolița cu numărul 2013 în urma tratamentului cu Pluset a avut o reacție slabă la tratamentul de polioovulație. În momentul fazei estrale ovarul drept a avut o dimensiune de 3/2 cm iar, șapte zile mai târziu ovarul drept a avut 3,5/3 cm cu prezența a doi corpi luteali; ovarul stâng a avut dimensiunea de 2,9/1,8 cm iar, în faza estrală 2,5/1,5 cm și un corp luteal în momentul flusingului. În urma flusingului nu s-a reușit recuperarea embrionilor.

Experiment 3 ferma Terra di Bufala Războieni

În luna mai 2018 au fost selectate și poliovulate două donatoare în vârstă de 5 ani aflate la a doua lactație și între 60 și 90 de zile postpartum. Femele au fost inseminate la momentul estrului cu paiete de spermă convențională de la bivoul Oro di Mediterranea.

Donatoarea D1552 a fost poliovulată cu PMSG 2500 UI, după protocolul de sincronizare cu P4 – PG - PMSG - HCG, în urma căruia au fost observați pe ovare foliculi evolutivi de diverse dimensiuni. În faza estrală au fost identificați peste 8 foliculi cu dimensiuni 0,8 - 1 cm pe fiecare ovar, dar și un folicul cu dimensiune mai mare, de 1,5 cm (fig. 10.15 și fig. 10.16).

În momentul flusingului pe ovare nu au fost identificați corpi luteali ci doar foliculi de dimensiuni mari și unii dintre aceștia cu septuri. Nu au fost recuperate formațiuni embrionare.

Acțiunea stimulatorie a PMSG a fost foarte amplă asupra ovarelor cărora le-a indus creșterea multor foliculi, dar rezultatul este nesatisfăcător deoarece aceștia nu au ovulat, chiar dacă a fost administrată la momentul estrului și HCG 1500 UI.

Donatoarea D4623 a fost poliovulată cu PLUSET 1000 UI după protocolul cunoscut P4 – PG - FSHp.

Sincronizarea receptoarelor a fost făcută după schema P4 – PG - PMSG-HCG. Au fost selectate 5 receptoare care toate au manifestat faza estrală în același timp cu donatoarele și ulterior procesul ovulator a fost de 100%, prin evidențierea CL eflorescent la 6-7 zile.

În momentul estrului au fost identificați pe ovare 6 - 8 foliculi de aproximativ 0,6 - 1 cm (fig. 10.17), iar în momentul flusingului au fost observați, și alți câțva foliculi de dimensiuni medii neovulați.

În urma protocolului de flusing au fost recuperați doi embrioni, transferați direct (fig. 10.18), la două receptoare sincronizate (4625 și 3061). Diagnosticul de gestație la 45 de zile de la transfer a fost negativ.

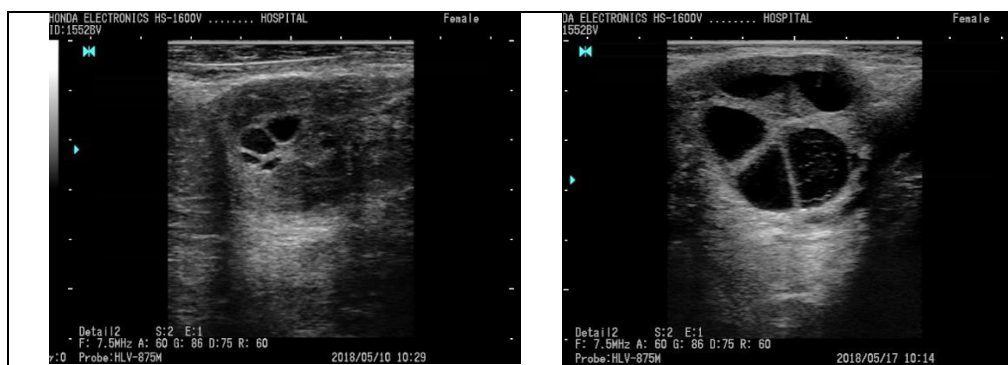
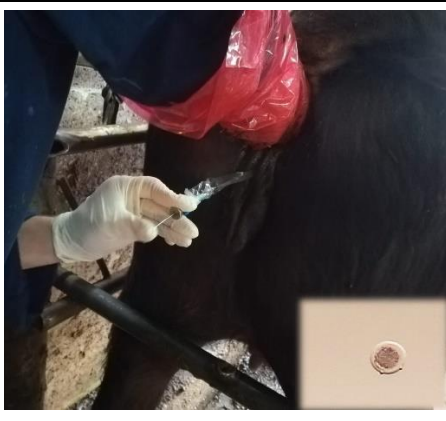
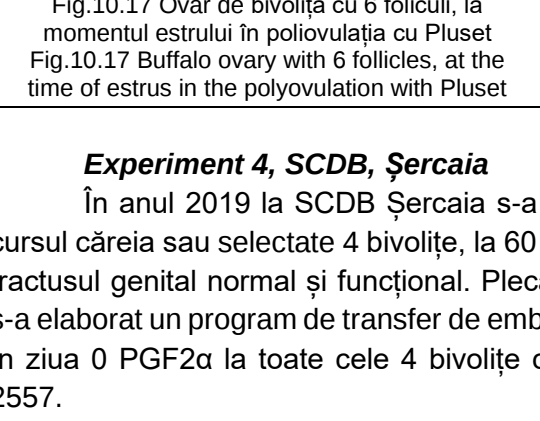
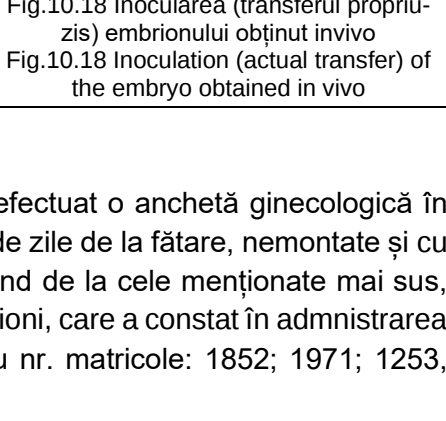


Fig. 10.15 Ovar de bivoliță poliovulat cu PMSG, la momentul estrului, se observă foliculi multipli dar de dimensiuni medii Fig. 10.15 Polyovulate buffalo ovary with PMSG, at the time of estrus, multiple but medium-sized follicles are observed 	Fig.10.16 Ovar de bivoliță poliovulat cu PMSG, după 7 zile de la momentul estrului, se observă foliculi neovulați polichistici Fig.10.16 Poliovulate buffalo ovary with PMSG, after 7 days from the time of estrus, ovaries with polycystic unovulated follicles. 
Fig.10.17 Ovar de bivoliță cu 6 foliculi, la momentul estrului în poliovulația cu Pluset Fig.10.17 Buffalo ovary with 6 follicles, at the time of estrus in the polyovulation with Pluset 	Fig.10.18 Inocularea (transferul propriu-zis) embrionului obținut invivo Fig.10.18 Inoculation (actual transfer) of the embryo obtained in vivo 

Experiment 4, SCDB, Șercaia

În anul 2019 la SCDB Șercaia s-a efectuat o anchetă ginecologică în cursul căreia sau selectate 4 bivolițe, la 60 de zile de la fătare, nemontate și cu tractusul genital normal și funcțional. Plecând de la cele menționate mai sus, s-a elaborat un program de transfer de embrioni, care a constat în administrarea în ziua 0 PGF2 α la toate cele 4 bivolițe cu nr. matricole: 1852; 1971; 1253, 2557.

La acest experiment nu au fost selectate bivolițe receptoare deoarece s-a dorit congelarea embrionilor obținuți în urma protocolului de sincronizare.

În urma acestei administrări, la examenul transrectal (E.T.R.) efectuat în ziua a 3-a, s-a constatat că nicio femelă nu se afla în estrus (călduri). Astfel, după 11 zile de la prima administrare s-a repetat doza de PGF2 α la toate cele 4 bivolițe, iar după 48 de ore, în ziua 13, trei femele din cele 4 se aflau în estru cu mucus caracteristic (nr. matricol 1852, 1971 și 2557 iar, nr. 1253 a fost nereactivă).

Au fost selectate, în final, ca donatoare de embrioni bivolițele cu nr, matricol 1852 – D1 și 1971 – D2, iar după 10 zile de la estrus (în ziua 24 de la prima administrare de PGF2 α) se începe tratamentul de poliovulație cu hormonul FSH-Pluset cu 1000 UI (FSH/LH) astfel:

Ziua 1: AM – 4 ml și PM - 4 ml i.m. FSH la donatoarea D1și D2;

Ziua 2: AM -3 ml și PM - 3 ml i.m., FSH la donatoarea D1și D2;

Ziua 3: AM -3 ml și PM - 3ml i.m., FSH la donatoarea D1 și D2;

Ziua a 4-a: s-au efectuat observații pentru depistarea estrului

Ziua a 5-a: s-au efectuat observații pentru depistarea estrului.

Ziua a 6-a: s-au administrat 3 ml de Receptal i.m. la fiecare D1 și D2 și peste 2 ore s-au efectuat I.A. cu 2 doze de material seminal congelat, apoi înșămânțarea artificială s-a repetat la 12 ore de la prima.

Ziua a-13-a: la 7 zile de la I.A. s-a făcut recoltarea prin lavaje repetate cu mediu PBS.

Pentru prelevarea formațiunilor embrionare din uterul bivoliței donatoare s-a utilizat tehnica Neustadt Aish. Această tehnică utilizează un cateter de tip Rusth (Worllein), lung de 70 cm, cu două căi. Introducerea în cornul uterin se efectuează sub control transrectal, după ce acesta a fost rigidizat cu un mandren metalic adecvat.

Din punct de vedere științific, activitatea (reactivitatea/răspunsul) ovariană la tratamentul de poliovulație a fost diferit, în cazul celor două femele.

La bivolița D1, pe ovarul drept s-au observat formațiuni luteale (2 CL) în faze de organizare (fig. 10.19) și foliculi cavitari hiperecogeni neovulați, dar de dimensiuni reduse (5 mm). Pe ovarul stâng reacția de creștere foliulară și ovulația a fost mai bună, au fost identificați 4 CL (fig.10.20) și 4 foliculi neovulați de dimensiuni reduse sub 5 mm, posibil să mai fi involuat de la ziua 7 până la momentul flusingului.

În concluzie, reacția ovariană a fost favorabilă în urma tratamentului cu Pluset, dar activitatea ovariană de stimulare a dinamicii foliculare a fost limitată deoarece s-a produs dezvoltarea și ovularea unui număr redus de foliculi.

În urma spălării uterine și a evaluării lichidului de flushing în filtre separate nu au fost identificate formațiuni embrionare.

Conform literaturii de specialitate internaționale, fenomenul de poliovulație este sub limita inferioară, dar aproape de aceasta.

La bivolița D2 ovarul drept a avut la examinare un număr de 4 CL în faza de organizare, iar pe ovarul stâng nu a fost identificată nicio structură luteală. Această donatoare a avut un răspuns slab ovulator.

Tratamentul de poliovulație cu Pluset aplicat la bivolite, a avut efectul așteptat poliovulator, identificându-se astfel un nr total de 10 CL. Răspunsul poliovulator general este sub datele oferite de alte experimente de această natură, posibil din cauza insuficienței susțineri hormonale din timpul protocolului terapeutic. La bivolița D2 ovarul stâng a fost areactiv în ciuda dimensiunii sale.

Se recomandă în această fermă folosirea schemei de poliovulație de 5 zile, conform producătorului preparatului farmaceutic Pluset și în doze descrescătoare, de două ori pe zi, pentru susținerea activității de creștere foliculară până la stadiul de folicul de Graaf și ovulație.

Pentru recuperarea embrionilor se recomandă folosirea a 60 ml lichid de flusing urmat de decantare și evaluarea depozitului în sticle de ceas sterile, protocol utilizat la BVN Neustadt, Germania. Dacă se folosește metoda perfuziei + filtre de separație, trebuie folosite filtre de unică folosință (posibil ca zigotii să fi fost aglutinați sau blocați în filtru colmatat.).



Fig.10.19 Ovar de bivoliță cu dimensiunea de 1,9/2,5 cm, și cu 2 CL, la momentul flushing-ului uterin

Fig.10.19 Buffalo ovary with a size of 1.9 / 2.5 cm, and with 2 CL, at the time of uterine flushing



Fig.10.20 Ovar de bivoliță cu 4 CL și dimensiune de 1,77/2,9 cm

Fig.10.20 Buffalo ovary with 4 CL and size of 1.77 / 2.9 cm

2018 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals

Embryo industry on a new level: over one million embryos produced *in vitro*

By Joao Viana, Chair – IETS Data Retrieval Committee (henrique.viana@embrapa.br)

In: Embryo Technology Newsletter, v. 36, n.4, 2019

1. Executive summary

The International Embryo Transfer Society (IETS) Data Retrieval Committee presents the 28th annual report on the data collected globally during 2019 for embryo transfer (ET) activities in 2018. No major change was observed in the number of countries submitting data this year (21%; Table 1). In spite of the efforts of this committee, recovering data from Asia remains a challenge and the lack of numbers from Japan in the past two years certainly contributed to blurry local trends in the embryo industry. On the other hand, we have comprehensive data from most European and American countries where livestock is economically relevant. Thus, the numbers presented in this report are likely to represent the main trends for the world ET activity.

Table 13. Other species: IVD and IVP embryo collections and transfers

Region/ Country	IVD Embryos					IVP embryos							
	Flushes	Embryos	Embryo transfer			Donors	Oocytes	Embryos	Embryo transfer				
			Fresh	Frozen					Fresh	Frozen			
				Domestic	Foreign								
Cervids													
Argentina	8	38	0	0	0	0	0	0	0	0			
Buffalo													
Italy	0	0	0	0	0	2	49	21	27	0			
Romania	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0			
Total	3	6	0	0	0	2	49	21	27	0			

Fig. 10.21 Extras din Raportarea IETS din 17.01.2020, SUA. România și Italia au raportat activități de embrio-transfer la bubaline

Fig. 10.21 Quoted from the IETS Report of 17.01.2020, USA, Romania and Italy reported embryo-transfer activities in buffaloes

În urma rezultatelor obținute după aceste experimente considerăm că am adus plus valoare fermierilor implicați și am îmbunătățit cunoștințele în domeniul biotehnologiei de reproducție la bivoul indigen românesc. Prin publicațiile aferente a fost crescută vizibilitatea națională și internațională a reproducerii asistate la bubalinele din România.

Datele obținute de noi în urma experimentelor de embryo-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 procedure (fig. 10.21).

10.3.2 Tehnici de recoltare a ovocitelor

Calitatea ovocitei are impact asupra dezvoltării, supraviețuirii, transformării embrionare, instalării, menținerii gestației cât și a dezvoltării fetale.

Ovocitele obținute prin puncția ovarelor provenite de la animalele sacrificate sau a ovarelor obținute prin ablație, constituie cea mai bună sursă gameți femeli. Aceste ovocite sunt imature și necesită o maturare „*in vitro*”. Puncția și aspirarea foliculară (OPU) pe animalul viu permite folosirea donatoarelor de ovocite cu potențial genetic cunoscut.

Avantajele recoltării ovocitelor la bovine și bubaline:

- 1) valorificarea ovocitelor animalelor cu genetice cunoscută și trebuie sacrificate de necesitate;
- 2) eficientizarea biotehnicii prin producția de embrioni *in vitro*;
- 3) obținerea unui număr mai mare de embrioni pe animal comparativ cu metoda convențională a superovulației.

Dezavantaje și riscuri asociate procesului de recoltare a ovocitelor:

- 1) ovocitele recoltate pot fi compromise ușor;
- 2) necesită resurse (financiare și timp);
- 3) poate cauza discomfort animalelor vii.

Maturarea ovocitelor în condiții de laborator

Ovocitele prelevate din foliculii antrali, prin laparatomie sau sacrificarea femelelor, reiau spontan meioza dacă sunt plasate într-un mediu special de cultură, la 38°C, incubate într-o atmosferă de 5 % CO₂. Prezența unui cumulus compact și intact în momentul cultivării ovocitelor favorizează reluarea meiozei pentru majoritatea ovocitelor. S-a dovedit prin multiple experiențe că ovocitele cultivate în foliculul lor se maturează asemănător celei observate „*in vitro*”.

Aprecierea morfocitometrică și clasificarea ovocitelor

Pe bază aspectelor morfologice, ovocitele se încadrează în două clase de calitate: *ovocite mature* (celulele cumulus expandate, prezența primului globul polar, citoplasma omogenă sau granulate, zona pelucida integră și spațiul perivitelin uniform) și *ovocite degenerate* (pierderi de celule cumulus, citoplasma puternic granulată, vacuolizată, zona pelucidă ruptă, spațiu perivitelin neuniform).

După maturare complexele ovocită-cumulus se evaluează cu magnificație de x3, x5, x7. Indicatorul maturării ovocitelor este reprezentată de transformările apărute la nivelul complexelor ovocită cumulus ooforus (COC). Gradul de mucifiere și expandare a acestor celule a determinat gruparea lor în 5 categorii de calitate notate de la 0 la 4 (Downs, 1989).

Material și metodă

Cercetările au fost realizate în martie 2019 pe ovarele a cinci bivolițe din ferma Terra di Bufala, loc Războieni, Iași.

Pentru acest experiment a fost necesară o specializare în doi ani diferiți la Laborator de Fertilizare in Vitro de la BVN, din Neostadt VA, Germania. Prin două contracte de mobilitate a doctoranzilor (UEFISCDI/MD) am efectuat stagii de practică și perfecționare în vedere recoltării ovocitelor și FIV la bovine sub îndrumarea Dr. Adriane Wenigerkind și a Dr. Nonher Hans Peter.

După sacrificarea bivolițelor, ovarele au fost colectate într-un recipient termoizolant ce conținea o soluție salină de NaCl 0,9% la temperatura de 37°C. Acestea au fost transportate în laborator imediat după recoltare, până în 4 ore.

Metoda de lucru

- Ovarele s-au tamponat cu șervețele de hârtie pentru înlăturarea excesului de ser fiziologic, lichide biologice etc.;
- Cu ajutorul unei pense hemostatice s-a fixat ovarul de hilul ovarian și s-a început secționarea propriu-zisă pentru eliberarea ovocitelor din masa ovarului;
- S-a secționat toată suprafața ovarului, evitându-se pe cât posibil secționarea corpilor luteali (pentru a reduce contaminarea cu sânge) și a foliculilor maturi (deoarece conțin ovocite mature, nedorite pentru maturarea in vitro)
 - S-a spălat cu jet de soluție PBS-modificată suprafețele secționate;
 - Mediul obținut s-a filtrat printr-o sită pentru separarea pariculelor de mari dimensiuni;
 - Lichidul astfel filtrat s-a trecut prin sita coproparazitologică, aceasta a reținut țesuturile ce înglobează ovocitele;
 - S-a clătit bine recipientul deasupra sitei mai sus menționată.

- Frațiunea reținută s-a depus într-o placă petri de căutare, iar sita coproparazitologică s-a clătit bine cu jet de soluție PBS-modificată deasupra plăcii petri.

- Placa petri s-a direcționat spre laborator în vederea identificării și recoltării propri-zise a ovocitelor.

Ovocitele au fost recoltate prin două metode: metoda puncției și aspirației foliculilor mari și metoda felierii ovarelor. Cu ajutorul unei seringi de 10 ml prevăzută cu un ac de 18G, s-a pătruns în corticala ovariană și au fost pătrunși cât mai mulți foliculi. După recoltarea ovocitelor din foliculi, acestea au fost evaluate la stereomicroscop, ovocitele bune pentru maturare au fost transferate într-o altă placă cu mediu de recoltare în scopul spălării acestora de resturile foliculare.

10.3.3 Aprecierea morfologică a ovocitelor pentru maturarea „in vitro”

Pe baza caracterelor morfologice identificate (aspectul zonei pelucida, cumulusului ooforus, citoplasmei, spațiului perivitelin) ovocitele de bivoliță recoltate prin intermediul celor două metode au fost încadrate în două clase de calitate: ovocite „cultivabile” și ovocite „necultivabile”. Analiza morfocitometrică s-a realizat la stereolupă cu cameră IP, și analizată cu softul Motic Images Plus luându-se în studiu grosimea zonei pelucida, grosimea cumulusului, diametrul ovocitei. Măsurătorile morfocitometrice efectuate au permis reîncadrarea ovocitelor în patru clase de calitate: clasa I-a (A), clasa a II-a (B), clasa a III-a (C), clasa a IV-a (D).

Criterii de evaluare morfologică necesare pentru clasificarea ovocitelor:

- ✓ *aspectul zonei pelucida*: sfericitate, grosime, integritate;
- ✓ *aspectul cumulusului ooforus*: număr straturi de celule, compactare, expansiune;
- ✓ *aspectul citoplasmei*: textura citoplasmei, prezența vacuolelor, granulație, opacitate, omogenitate;
- ✓ *aspectul spațiului perivitelin*: prezența celulelor detașate, grosime, uniformitate;
- ✓ *aspectul ovocitei*: forma generală, regularitate, opacitate, diametru.

Rezultate și discuții

Ovarele celor trei bivolițe sacrificate au fost examinate macroscopic iar dimensiunea acestora a variat între 1,2 și 2,5 cm. Au fost observați foliculi cavitari în diverse faze de evoluție. Un singur ovar nu prezenta foliculi antrali vizibili (3-5 mm).

Prin puncție și aspirare, ca tehnici de recoltare, au fost colectate lichidele foliculare și ovocitele (cumulus complex-ovocită) din foliculii mari. 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 puncționați și aspirați (11) (fig. 10.22 și fig 10.23).

După examinarea la stereolupă raportul folicul / ovocită identificat a fost de 11/5, procentul reușitei fiind de 45,45%.

Prin felierea ovarelor, ca tehnică de recoltare a ovocitelor imature, s-au obținut un număr de ovocite mult mai bun comparativ cu metoda anterioară. În urma identificării ovocitelor au fost recuperate un număr de 51 de complexe ovocite-cumulus. Apreciem astfel că rata medie de recoltare a ovocitelor de bivoliță este de 8,5 / ovar, în condițiile sezonului de primăvară.



Fig. 10.22 Recoltarea ovocitelor de bivoliță prin puncție și aspirare
Fig. 10.22 Collection of buffalo oocytes by puncture and aspiration



Fig. 10.23 Recoltarea ovocitelor de bivoliță prin felierea ovarelor
Fig. 10.23 Collection of buffalo oocytes by slicing the ovaries

Totalul ovocitelor recoltate din ovarele de bivoliță, după sacrificare a fost de 56. Procentual, 8,93% (5/56) au fost obținute prin puncție foliculară și 91,07% (51/56) prin feliere ovariană.

În ceea ce privește calitatea ovocitelor recoltate, după evaluarea morfologică la stereolupă, urmărind criteriile de clasificare, ovocitele au fost încadrate în două clase principale: ovocite cultivabile și ovocite necultivabile.

În categoria *ovocitelor cultivabile* au fost incluse ovocitele clasate în grupa A și B (clasele I și II de calitate), iar în categoria de ovocite necultivabile au fost incluse ovocitele din grupa C și D (clasele III și IV).

Din totalul de 56 de ovocite 46,42 % (26/56) au reprezentat ovocite cultivabile (fig. 10.24, fig. 10.25), 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*.

Puțin peste jumătate dintre ovocitele de bivoliță recoltate și evaluate au fost clasificate ca fiind necultivabile 53,57% (30/56) (fig.10.26, fig. 10.27). Acest procent este influențat de variabilitatea genetică a ovogenezei și foliculogenezei la bivoliță, tehnica de lucru și metoda de recoltare.

Dacă apreciem calitatea ovocitelor obținute doar prin felierea ovarului, grupa ovocitelor cultivabile ar fi mai mare 47,05% (24/51), dat fiind faptul ca au fost punționați și foliculi care s-au dovedit a fi atrezici (2/11, procent de 18,18% ovocite cultivabile raportat la numărul de foliculi punționați). Foliculii atrezici au generat ovocite de calitate inferioară, care la examinare după două spălări succesive au apărut ca denudate de cumulus ooforum și cu cromatina condensată și fragmentată.

Studii recente dezvoltate pe ovare de bivoliță demonstrează că producția de embrioni *in vitro* este influențată și de sezonalitate. La latitudinile italiene, bivolul (*Bubalus bubalis*) este o specie sezonieră poliestră, care prezintă o eficiență reproductivă îmbunătățită atunci când lumina zilei scade (toamna).

A fost efectuat un studiu cu privire la influența sezonului asupra ratei de recuperare a ovocitelor de bivol, asupra calității ovocitelor, evaluată pe bază morfologică și competența de dezvoltare după fertilizarea *in vitro*. În acest scop, ovarele de bivol au fost colectate de la un abator local și ovocitele obținute prin aspirarea foliculilor au fost evaluate, clasificate și, dacă au fost considerate de bună calitate, au fost transferate diferitelor proceduri ale IVEP, (Hufana-Duran și Duran, 2015).

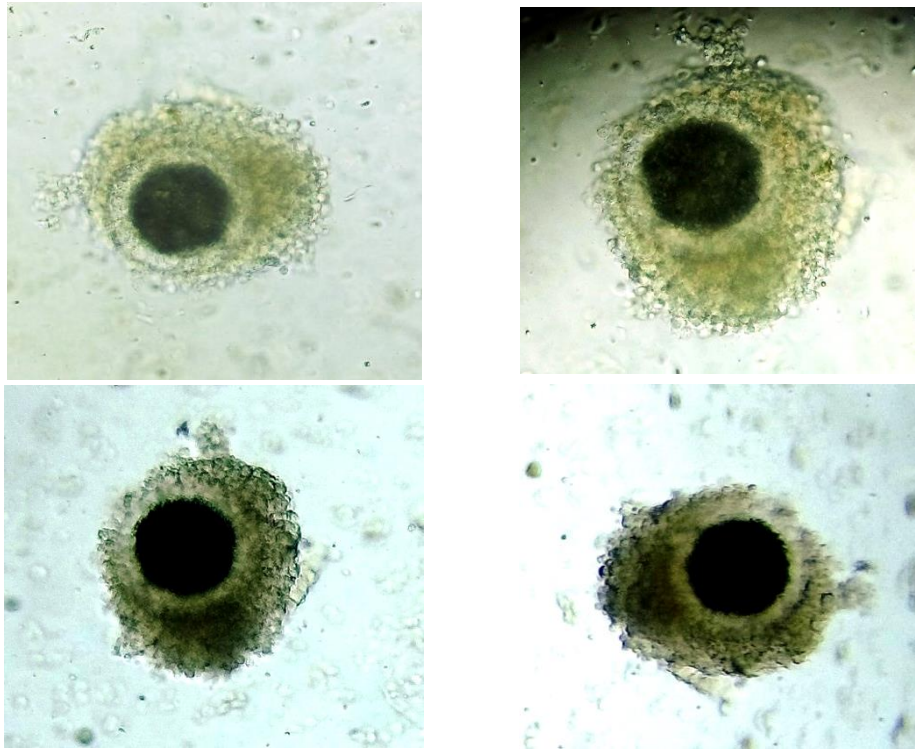


Fig. 10.24 Ovocyte de calitate superioară încadrate în clasa I (A)

Complexul cumulus ooforum este evident, compact, în multe straturi în jurul ovocitei, membrana pelucidă integră, spațiu perivitelin evident, cromatină fin granulară și omogenă

Fig. 10.24 High-quality oocytes in Class I (A)

The cumulus ooforum complex is obvious, compact, in many layers around the oocyte

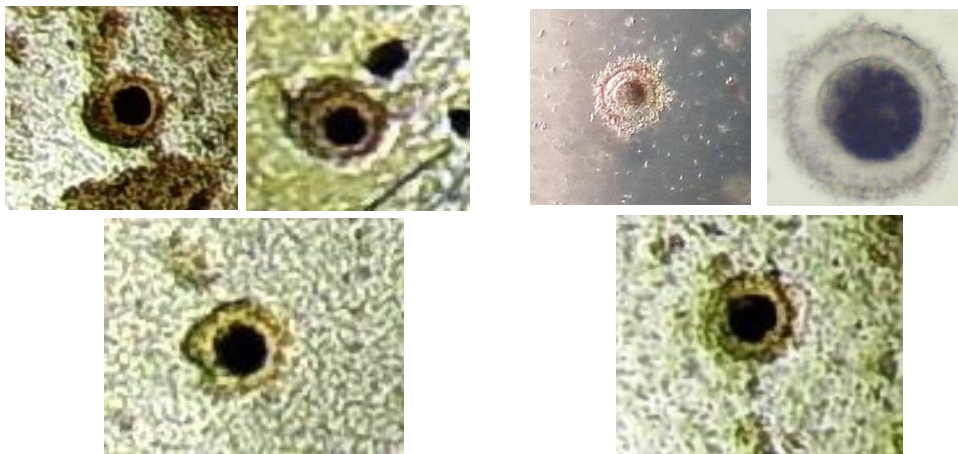


Fig. 10.25 Grup de ovocite (complex ovocită-cumulus) încadrate în clasa a II-a (B). Straturi cumulus compacte, ooplasma granulară, spațiu perivitelin evident

Fig. 10.25 Group of oocytes (cumulus oocyte complex) classified in class II (B). Compact cumulus layers, granular ooplasm, obvious perivitelline space

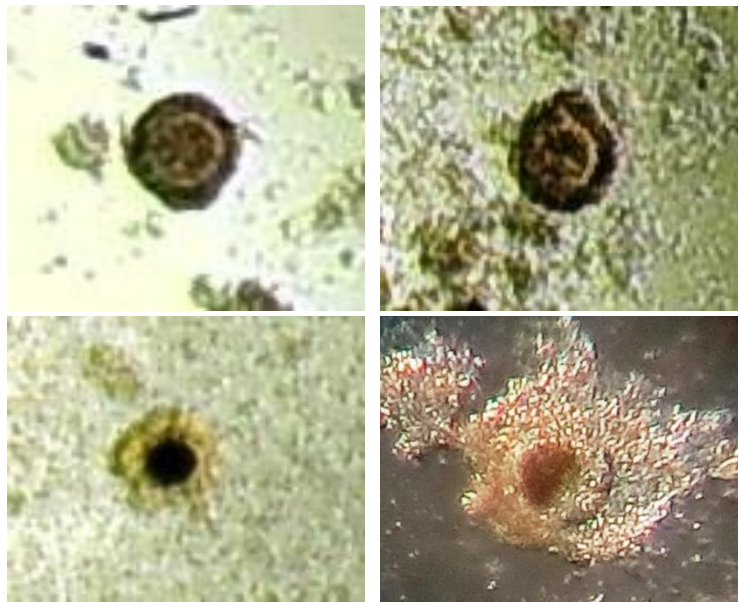


Fig. 10.26 Ovocyte încadrate în clasa III (C) cu cromatină fragmentată și vacuolizată, puține straturi de cumulus

Fig. 10.26 Class III (C) oocytes with fragmented and vacuolised chromatin, few cumulus layers

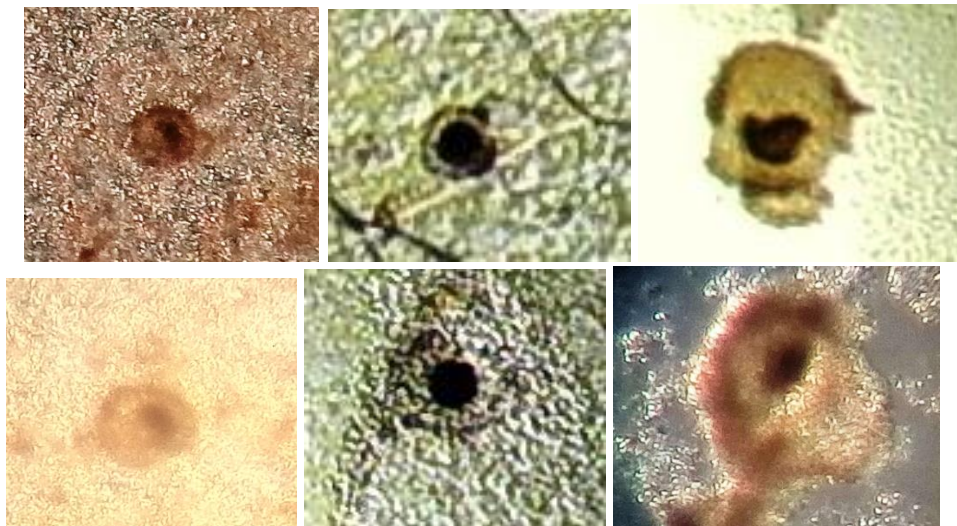


Fig. 10.27 Grup de ovocite încadrate în clasa IV (D) cu cromatina condensată, membrana pelucidă fracturată, cumulus lipsă s-au neomogen

Fig. 10.27 Group of class IV (D) oocytes with condensed chromatin, fractured pellucid membrane, missing cumulus were inhomogeneous

În general, nu s-au găsit diferențe în ceea ce privește recuperarea ovocitelor pe ovar între anotimpuri, dar interesant, procentul de ovocite mici a fost mai mare ($P < 0,05$) în primăvară și vară ($0,9 \pm 0,1$ și $0,9 \pm 0,2$) comparativ cu toamna și iarna ($0,3 \pm 0,1$ și $0,2 \pm 0,1$). Atât scindarea, cât și rata embrionilor au crescut în perioada octombrie-decembrie ($71,7 \pm 3,1$ și respectiv $26,5 \pm 2,1$) comparativ cu perioada din aprilie până în iunie ($58,0 \pm 2,4$ și respectiv $18,8 \pm 1,6$), reflectând astfel reproducerea *in vivo*.

Cu toate acestea, merită subliniat faptul că embrionii transferabili au fost produși *in vitro*, chiar și în timpul sezonului nefavorabil, dar cu o eficiență scăzută. În concluzie, autorii arată că aceste rezultate sugerează evitarea colectării ovocitelor în timpul primăverii atunci când pot fi planificate sesiunile OPU pentru a economisi resurse și a îmbunătăți raportul beneficii / costuri.

10.4. Concluzii parțiale

1. 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.
2. La parturiție au fost obținuți 9 fetuși vii și viabili din care raportul dintre sexe a fost de 88,8% în favoarea celui femel. Afirmăm că obiectivul de creștere a potențialului genetic la bivolițe prin folosire insămânțării artificiale cu material sexat poate deveni realizabil.
3. 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 blastocist expandat, în timp ce același stadiu este atins la bubaline în ziua a 6-a de dezvoltare.
4. După protocolul de sincronizare OvSynch aplicat la ferma Bradano River Italia, în extrasezon, rata gestației a fost de 48%.
5. La SCDB Șercaia, rata medie a fătării în urma tratamentului pentru inducerea luteolizei a fost de 33.3% (2017) și de 50% (2018).
6. Bivolița cu numărul 8043 căreia i s-a făcut tratamentul de polioovulație PRID DELTA 11 zile, PG-PMSG 2500 U.I. a avut o reactivitate bună obținându-se în ziua flușingului patru embrioni și o rata a fătării de 25 %.
7. 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.
8. Sincronizarea receptoarelor a fost făcută după schema P4-PG-PMSG-HCG. Au fost selectate 5 receptoare care toate au manifestat faza estrală în același timp cu donatoarele și ulterior procesul ovulator a fost de 100%, prin evidențierea CL eflouescent la 7 zile.

9. 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.

10. Valurile foliculare intermitente cu evoluția unui număr mic de foliculi evolutivi dublată și de influența sezonality, au dus la dezvoltarea și identificarea un număr redus de foliculi antrali ce au putut fi punctați și aspirați.

11. Metoda de recoltare prin punctia și aspirația foliculilor de bivoliță are un procent de reușită de 45,45%, raportul folicul / ovocită identificată a fost de 11/5.

12. Prin felierea ovarelor, ca tehnică de recoltare a ovocitelor imature, rată medie de reușită la bivoliță este de 8,5 / ovar.

13. Totalul ovocitelor recoltate din ovarele de bivoliță după sacrificare a fost de 56. Procentual, 8,93% au fost obținute prin punctie foliculară și 91,07 % prin feliere ovariană.

14. Din totalul de 56 de ovocite 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*.

15. 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.

11. PARTICULARITĂȚI MORFO-FUNCȚIONALE ALE APARATULUI GENITAL LA BIVOLIȚĂ

11. MORPHOFUNCTIONAL PARTICULARITIES OF THE GENITAL SYSTEM IN BUFFALOES CAW

Ovarele sunt vitale pentru funcționarea aparatului genital femel, dezechilibrul acestora compromițând funcția ciclică de reproducere. Așadar cunoașterea și diagnosticarea afecțiunilor ovariene este importantă, adesea acestea fiind factorul care duce la sacrificarea bivolițelor din cauza infecundității sau sterilității. Este important să se determine incidența patologiei genitale, în special a celor găsite în abator, deoarece constituie o adevărată sursă de studiu și oferă o mare cantitate de informații, mai ales la speciile cu populație mică.

11.1. Material și metodă

Au fost examinate un număr de 31 de aparate genitale provenite de la bivolițele sacrificate din ferma Terra di Bufala, în perioada 2017 - 2019. Bivolițele au fost sacrificate periodic, indiferent de faza ciclului sexual, marea lor majoritate fiind eliminate din efectiv din motive de necesitate (agresivitate, accidente, hipo/agalaxii, cauze ginecologice în ascendență).

Probele, constituite din aparatul genital de bivoliță, au fost obținute dintr-un abator local din zona de N-E a României, imediat după recoltare au fost individualizate și ambalate în recipiente de plastic și transportate în cel mai scurt timp, în condiții de refrigerare la Laboratorul de Reproducție al Facultății de Medicină Veterinară din Iași. Atât uterul cât și ovarele au fost examinate în stare proaspătă interesând statusul fiziologic, morfometria și aspecte histologice și histopatologice.

Examinarea macroscopică

În cadrul examinării ginecologico-obstetricale, au fost evaluate morfometric și prin palpare, segmentar toate elementele constitutive. Astfel au fost măsurate colul uterin și coarnele (diametrul și lungimea). Pentru a observa existența unei modificări a volumului, consistenței, existența patologiilor și asimetria între cele două coarne uterine. După această examinare, cervixul și coarnele au supus unor incizii pentru a observa prezența posibilelor secreții anormale intrauterine.

Cazurile de gestație incipientă sau vizibilă s-au evidențiat după deschiderea coarnelor și a corpului uterin. De asemenea, s-a acordat atenție unor posibile aderențe și modificări ale volumului, dimensiunii, culorii și conținutului oviductului.

Pentru dimensionare și aprecierea morfometriei ovarele au fost cântărite la o balanță electronică (Partner AS200) și au fost măsurate cu ajutorul unei rigle de contrast gradată în cm și inci (fig. 11.1).

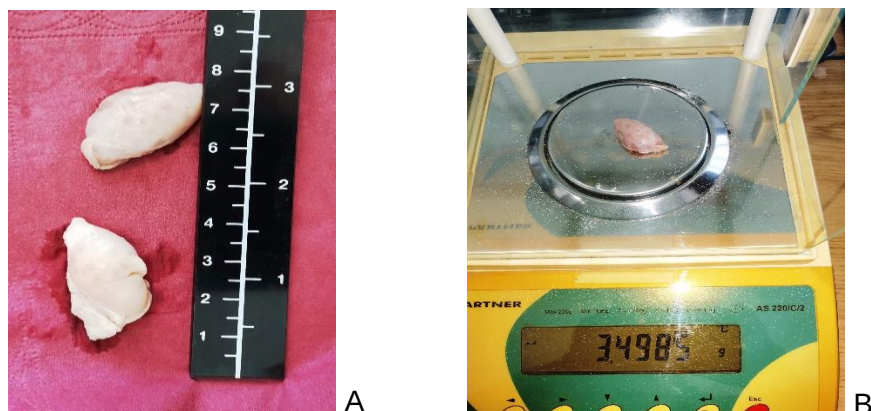


Fig. 11.1 Aprecierea dimensiunilor și greutatei ovarelor prin metode biometrice, A. Măsurare, B. Cântărire

Fig. 11.1 Assessment of ovarian size and weight by biometric methods, A. Measurement, B. Weighing

Examinarea microscopică

Examenul microscopic al eșantioanelor recoltate din segmentele aparatului genital de bivoliță a fost efectuat la laboratoarele de Anatomie Patologică și Histologie ale FMV Iași

Obținerea preparatelor histologice prin secționarea la parafină, colorare și interpretare s-a făcut după protocoale standard de lucru:

- a) Hematoxilină - Eozină - Albastru de metil (HEA);
- b) Acid Periodic - FuxinăSchiff (PAS);

11.2. Rezultate și discuții

La ferma luată în studiu, bivolițele cu afecțiuni genitale și producție redusă de lapte au fost vândute sau trimise la abator. Deci, este important ca afecțiunile genitale și incidența acestora să fie definite (cunoscute) pentru a aduce contribuții în domeniu, explicarea unor fenomene și nu în ultimul rând reduce pierderile financiare.

11.2.1 Descrierea obstetrical-ginecologică și biometrică a uterului la bivolițele adulte

Cunoașterea anatomiei sistemului reproductiv feminin, a particularităților anatomice feminine este importantă, pentru utilizarea tehnicilor

de reproducere, cum ar fi diagnosticarea gestației, înșămânțarea artificială, poliovulația, prelevarea ovulelor și transferul embrionilor.

Bovinele și bubalinele sunt considerate specii similare, dar există unele diferențe între organele genitale externe și interne ale femelelor.

În laboratorul de reproducție din cadrul FMV Iași, au fost examinate 32 de uterele de bivoliță din care a fost diagnosticat un caz de anomalie congenitală reprezentat de freemartinism. Lipsa ovarelor și a segmentelor uterine în acest caz a făcut ca raportarea ulterioară a rezultatelor obținute să se facă la un număr de 31 utere. Prin disecarea uterelor s-a apreciat aspectul, consistența, mărimea și gradul de simetrie al coarnelor uterine (fig. 11.2 și fig. 11.3). Ovariele (număr = 62) au fost examinate folosindu-se instrumentar specific pentru următoarele determinări de morfometrie:

- greutatea (g), lungimea (mm), lățimea (mm) și grosimea (mm)
- forma (ovoid aplatizat, globulos cilindric s-au sferic),
- consistența (dură, elastică, fluctuantă),
- culoarea (gălbui și roz),
- numărul de foliculi ovarieni pe suprafață (terțiari și dominanți),
- prezența corpilor luteali (activi și /sau în involuție),
- diagnosticul de organ (fiziologic sau patologic).

Examinarea meticuloasă a ovarelor privind structura fiziologică și funcțională a fost efectuată comparativ pe fiecare ovar, avându-se ca reper structura normală a ovarului.



Fig. 11.2 Aspect macroscopic al aparatului genitall la bivolițe. Vedere de ansamblu a structurilor anatomo - obstetricale nedisecate

Fig. 11.2 Macroscopic appearance of the complete genital tract in buffaloes. Overview of undissected anatomical - obstetric structures

Din totalul aparatelor genitale examinate, la un singur caz nu au fost identificate ovarele și porțiuni din coarnele uterine. Cazul este raporat și la anomaliiile de formare a uterului, fiind provenit de la o vițică de bivol cu frimartinism, manifestat prin imposibilitatea de a decela ovarele și lipsa de porțiuni tubulare ale căilor de conducere (fig. 11.4).



A.



B.

Fig. 11.3 Aspecte morfometrice ale uterului și ovarelor la bivolițele sacrificate.

A. Diametruele coarnelor uterine la nivelul bifurcației; B. Pliurile cervicale prolabate în rozetă simplă la nivelul vaginului

Fig. 11.3 Morphometric aspects of the uterus and ovaries in slaughtered buffaloes.

A. Diameters of the uterine horns at the bifurcation; B. Prolapsed cervical folds in simple rosette at the level of the vagina

În figură se observă prezența unui sept între vestibulul vaginal (v.v.) și vagin (V), foarte evident (H); vaginul este reprezentat dintr-un conduct cu spațiu limitat care se termină nedefinit cranial prin mai multe înfundături ale mucoasei. O freemartină reprezintă o femelă infertilă (născută geamănă la un mascul) care este dezvoltată imperfect și sterilă datorită influenței hormonilor masculini ai geamănului.

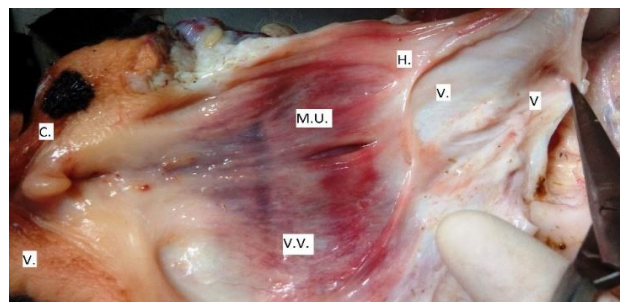


Fig. 11.4 Aparat genital de bivoliță freemartină. V. – vulvă, C. – clitoris, M.U. – meat urinar, V.V. - vestibul vaginal, VG. - vagin

Fig. 11.4 Freemartine buffalo genitalia

Studiile efectuate pe 42 de bivoli, în Italia, cu afecțiuni reproductive au evidențiat 10 freemartine determinate prin evaluări citogenetice. Dintre cele opt femele afectate, șase au prezentat conformația normală a corpului, vagin și

clitoris, în timp ce două au prezentat câteva trăsături masculine (Iannuzzi ș.a., 2005).

Evaluările citogenetice la 119 femele și 13 masculi cu suspiciuni de anomalii genitale au relevat 18 femele ca freemartine și toate femelele au fost sterile. Astfel, se pare că descrierile generale utilizate pentru definirea freemartinelor la bovine nu sunt aplicabile speciilor de bubaline și, de asemenea, freemartinele sunt mai puțin frecvente la bivolițe.

Din cele 31 de bivolițe de la care a fost recoltat aparatul genital după abatorizare și examinat în acest studiu, 9,68% au fost gestante. Două treimi din cazuri au fost gestații incipiente (mai puțin de 2 luni), o treime din cazuri au fost cuprinse între 3 și 4 luni (fig. 11.5 – fig.11.8).

Constatarea cazurilor de gestație în acest studiu este sub cea raportată de Al-Dahash și David (23,36%) și cea notată de Kaidi, care a fost de 10,27%. Divergența rezultatelor se poate explica prin diferența dintre populația vacilor examinate, zonele de studiu și materialele puse la dispoziția medicilor veterinari la abator.

La examinarea uterului de bivoliță gestant la 2 luni s-a observat că simetria coarnelor uterine a fost încă menținută, acestea având diametru de 3 cm. Peretele uterin a fost de aproximativ 3 mm, fiind ferm și tonic. După secționare s-a evidențiat sacul embrionar cu aceeași dimensiune ca uterul, iar embrionul a prezentat o mărime de 2/1 cm.

Ovarele au avut o dimensiune redusă 2,8/1,5 cm și pe ovarul stâng s-a găsit un corp luteal gestativ. CL nu a deformat evident conturul ovarului, lipsând mult partea de coroană, însă a fost prezent în stroma ovarului, ocupând peste trei sferturi din masa acestuia (fig.11.5).

La bubaline, tonicitatea peretelui uterin fiind crescută, peretele uterin pare mai gros, iar vasele sangvine au un aspect ondulat.

Toate aspectele descrise, asociate și cu perioada de gestație mai mare decât la bovine, fac ca evidențierea gestației la bubaline să întârzie și să nu apară asimetria coarnelor uterine la o gestație de două luni.

În urma examinării aparatelor genitale recoltate din abator s-a constatat că 74,20% dintre acestea prezentau utere normale ca dezvoltare și status funcțional.

Fiecare segment al aparatelor genitale femele de bivoliță a fost măsurat și au interesat lungimea, lățimea și grosimea acestora. Mediile datelor obținute sunt centralizate în tabelul 11.1.

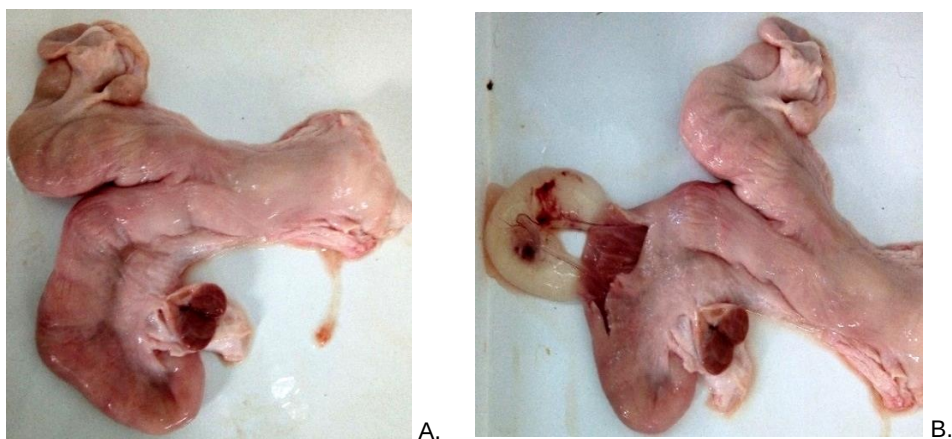


Fig. 11.5 Uter gestant de bivoliță la două luni. A. Uter neseționat; B. Uter seționat și evidențiat embrionul

Fig. 11.5 Pregnant uterus of buffalo at two months. A. Unsectional uterus; B. Uterus sectioned and embryo highlighted



Fig 11.6 Utere gestante de bivoliță (3 luni – stânga, 4 luni - dreapta)

Fig 11.6 Pregnant buffalo uterus

Particularitățile morfologice ale aparatului genital de bivoliță identificate sunt ilustrate în imagini, astfel în fig. 11.11 identificam un cervix de 7 cm lungime și 4 cm lățime, acesta este de formă cilindrică și cartilaginoasă, un corpul uterin scurt de 2 cm și care prezintă la baza un sept intercornual foarte puternic și lung de 6 cm. Anterior septul intercornual se continuă cu ligamentul intercornual ce acompaniază partea lipită a coarnelor uterine pe aproximativ jumătate din lungimea lor, aproximativ 8 cm.

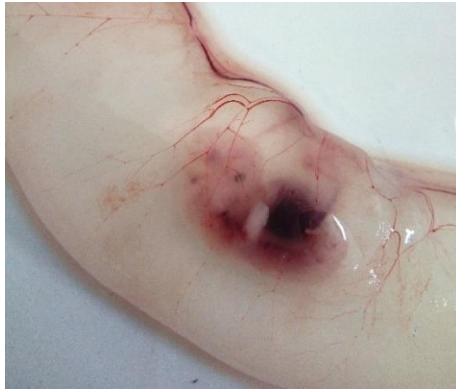


Fig. 11.7 Uter gestant, corn uterin drept în diametru de 5,5 cm

Fig. 11.7 Pregnant uterus



Fig. 11.8 Uter gestant, corn uterin stâng în diametru de 7 cm

Fig 11.8. Pregnant uterus

Coarnele uterine sunt alungite, aproximativ 10 cm din lungimea porțiunii libere a lor, au un aspect tubular amfractuos și sinuos cu multe boseluri. Pe secțiune se observă o multitudine de vase sangvine cu lumen bine delimitat și evident. Carunculii sunt insule de endometru bine evidențiate și reliefate. Spațiu intercornual este puțin și evident doar când ia aspect tubular.

La suprafața uterului se observă, sub seroasă, o multitudine de pliuri și șanțuri cu aspect longitudinal ce acompaniază coarnele uterine, fiind mai abundente la baza și la marginea liberă a coarnelor uterine.

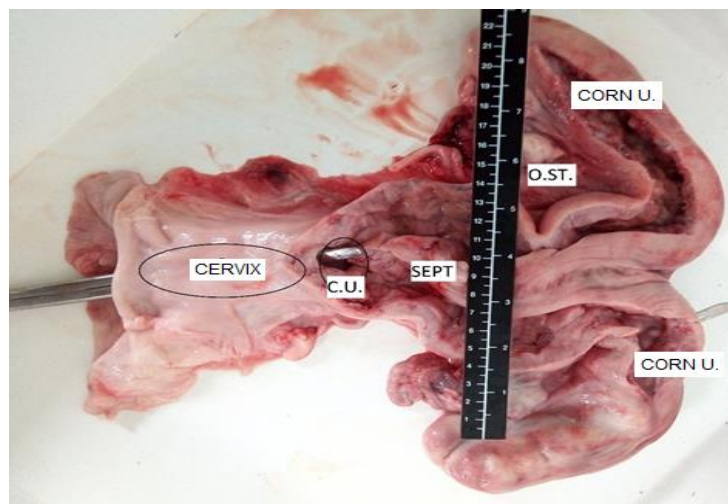


Fig. 11.9 Aspect de ansamblu al uterului disecat la bivoliță. C.U. – corp uterin, O.ST. – ovar stâng, CORN U. – corn uterin

Fig. 11.9 Overall appearance of the uterus sectioned at the buffalo. C.U. - uterine corpus, O.ST. - left ovary, CORN U. - uterine corn

Ovarele au aspect ovoid de culoare roz aprins deschis. Ovarele se găsesc pe mica curbura a coarnelor uterine, fiind susținute în poziție anatomică de mezoovar, ligamentul utero-ovarian și mezosalpinx (fig.11.10).

Tabel 11.1

Centralizator privind biometria segmentelor aparatului genital la bivolul indigen Românesc (măsurătorile sunt exprimate în cm)

Table 11.1

Centralizer regarding the biometrics of the genital apparatus segments at the Romanian native buffalo (measurements are expressed in cm)

Segment e aparat e genital	Aparat genital întreg	Vulva și vestibulul vaginal			Vagin	Cervix			Corp uterin	Coarne uterine	Oviduct
Măsură- tori	Lungime	Lungime	Lățime	Meat urinar	Lungime/ lățime	Lungime	Lățime	Nr. inele	Lungime/ lățime	Lungime/ grosime	Lungime
Medie	42,6	12,8	6,2	1,1	22,4 / 6,4	7,5	5,3	3	2,1 / 4,4	27,3 / 2,3	22,1



Fig. 11.10 Aparat genital de bivolită. Aspectul uterului și topografia ovarelor
Fig. 11.10 Buffalo genitalia. Appearance the tract and topography of the ovaries

În fig.11.11 se observă cornul uterin stâng ce are lungimea de 10 cm și lățimea de 2,5 cm în secțiune longitudinală. Peretele uterin este relativ gros, cu miometru bine definit și mucoasa uterină cu aspect dantelat. Peretele la secționare dă o senzație de turgescență și pare a fi cauciucat. Se observă numeroase vase de sânge cu aspect ondulat. În interior sunt pliuri ale endometrului ce formează carunculi proeminente de până la 0,3 – 0,4 cm.



Fig.11.11 Corn uterin de bivoliță, aspect pe secțiunea longitudinală

Fig.11.11 Buffalo uterus, appearance on the longitudinal section

În tabelul 11.2 sunt redate rezultatele măsurătorilor obstretical-morfometrice ale gonadelor cu particularitățile specifice ale acestora, inclusiv particularitățile uterului.

Rezultatele au arătat că infecția uterină a prezentat cea mai mare frecvență (9,67%) fiind reprezentată de endometrită, endometrită cronică și metrită necrotică, urmată de aderențe uterine (3,22%), și brida postcervicală (3,22%).

După datele din literatura de specialitate ovarul la bovine este de formă ovoidă, are aspect globulos, în mărime de 3 - 5 cm, de culoare galbenă - cenușie, pe suprafață sa pot fi identificate structuri fiziologice (foliculi și corpi luteali în diverse faze), (Hafez, 2007, Runceanu ș.a., 2007).

Prin comparație, ovarul bubalin este mai mic decât cel al bovinelor, (Dyce și Weinsing, 2009). Vale și colab. (1982) au descris următoarele măsurători pentru bivolițele adulte: ovarul drept (OD): 25,4 mm (lungime), 14,5 mm (lățime) și 15,7 mm (grosime); ovar stâng (OS): 24,7 mm (lungime), 14,1 mm (lățime) și 14,8 mm (grosime). Pentru juninci, Danell (1987) a înregistrat 22,8 mm (lungime), 18,2 mm (lățime) și 14,2 mm (grosime) pentru OD și 22,7 mm (lungime), 16,6 mm (lățime) și 13,8 mm (grosime) pentru OS. Pentru VALE și RIBEIRO (2005), ovarele au, în medie, între 25 și 30 mm lungime și 14 mm lățime.

Motivul principal pentru care un răspuns hormonal pentru stimularea activității ovariene este sărac la bivolițe pare a fi dat de un număr scăzut de foliculi antrali disponibili pentru recrutare. Numărul de foliculi >1,7 mm care variază de la unu la cinci, este substanțial mai mic decât cea de 17 - 32 la bovine. Numărul de foliculi de 3 mm în diferite faze ale ciclului estral la bivoliță, înregistrate prin ultrasonografie de către Manik R. S.(2002) este, de asemenea, mai mic decât cel raportat la bovine.

Studiul morfologic asupra ovarelor de bivolițe de la ferma Terra di Bufala a arătat că forma ovarelor a fost ovală alungită sau ovoid aplatizată. Ovarele

cu dimensiuni mari ale foliculilor prezenți pe suprafață au avut o formă sferică, globuloasă (fig.11.12). Ovarele normale au fost de culoare roz deschis și consistență fermă, fermă – elastică (fig. 11.13). Suprafața ovarelor cu foliculi mici și proeminenți a fost netedă și varia la palpare, iar unele ovare aflate în fază luteală și prezentând corp luteal au avut consistență dură.

Tabel 11.2

Morfometrie și particularități ale segmentelor uterine și ovariene la bivoliță

Table 11.2

Morphometry and particularities of the uterine segments in cow buffalo

OVARE BIVOLIȚĂ															Uter	
Nr. Cr.	Dimensionare (mm)			Foliculi (nr.)		C. L. (nr)		Greutate		Parte		Aspect	Culoare	Consistentă		Observatii
	Lungime	Lătime	Grosime	Evolutivi	Dominant	Activ	Regresie	gr.	St.	Dr.						
1	20	19	17	19	2	0	1	2.2	St.	-	globulos / cilindric	gălbui albicios	dur -elastic	aderente ovaro-bursale	aderente	
2	25	20	19	20	0	0	0	3.8	Dr.	-	sferic	roz	elastica	funcțional	normal	
3	41	34	21	0	0	0	0	8.2	-	Dr.	globulos / cilindric	roz aprins	fluctuenta	chist ovarian folicular	normal	
4	28	24	18	25	1	0	2	2.8	St.	-	ovoid / aplatizat	roz	elastica	funcțional	normal	
5	20	20	18	20	2	0	1	3.1	St.	-	sferic	gălbui albicios	elastica- buretoasa	funcțional	normal	
6	24	22	16	14	1	1	0	4.3	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	elastica	funcțional	endometrita cronică	
7	20	18	16	5	1	0	1	3.6	St.	-	sferic	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
8	18	16	14	5	0	1	2	3	-	Dr.	ovoid / aplatizat	roz - pal	dur -elastic	funcțional	normal	
9	22	12	9	3	0	1	0	2.9	-	Dr.	ovoid / aplatizat	gălbui albicios	dur -elastic	funcțional	normal	
10	12	10	8	4	0	0	1	1.4	St.	-	sferic	gălbui albicios	dur -elastic	hipotrofie	normal	
11	16	14	10	3	0	0	1	1.5	St.	-	ovoid / aplatizat	gălbui albicios	dur -elastic	hipotrofie	normal	
12	24	19	12	21	1	0	0	1.7	-	Dr.	ovoid / aplatizat	roz	elastica	funcțional	normal	
13	20	15	10	10	1	1	0	3	-	Dr.	ovoid / aplatizat	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
14	29	15	15	11	1	0	0	4.1	St.	-	globulos / cilindric	roz	dura	funcțional	normal	
15	16	10	5	6	0	0	1	3.8	-	Dr.	ovoid / aplatizat	galbui albicios	dura	hipotrofie	normal	
16	20	14	10	4	1	0	1	5.7	St.	-	ovoid / aplatizat	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
17	25	21	20	0	0	1	1	6.1	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
18	28	22	15	3	0	1	0	6.4	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
19	25	22	15	18	1	0	0	6.1	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
20	17	15	19	9	1	1	0	2.7	St.	-	sferic	gălbui albicios	dur -elastic	funcțional	normal	
21	19	11	8	12	0	0	0	1.4	-	Dr.	sferic	roz	dur -elastic	hipotrofie	normal	
22	23	18	12	14	0	1	1	3.5	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
23	24	16	9	16	0	0	1	5.1	-	Dr.	globulos / cilindric	gălbui albicios	dur -elastic	funcțional	normal	
24	31	20	16	28	1	0	1	5.4	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
25	33	26	20	3	0	1	0	6.2	-	Dr.	sferic	roz congestionat	dur	CLG	gestație	
26	22	12	1	2	1	1	0	4.8	St.	-	ovoid / aplatizat	roz	dur -elastic	CLG	gestație	
27	30	18	13	2	0	1	0	6.8	-	Dr.	globulos / cilindric	roz-congestionat	dur -elastic	CLG	gestație	
28	22	15	12	4	0	0	1	5.1	St.	-	ovoid / aplatizat	roz	dur -elastic	funcțional	gestație	
29	35	21	14	0	1	0	1	7.1	St.	-	ovoid / aplatizat	roz	dur -elastic	funcțional	gestație	
30	29	20	20	5	0	0	1	5.4	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	gestație	
31	31	28	12	10	1	1	0	6.9	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
32	30	15	15	0	1	1	1	6.5	-	Dr.	globulos / cilindric	roz - congestiona	dur -elastic	funcțional	normal	
33	22	23	14	5	1	1	0	7	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	chist Luteinic	normal	
34	16	10	9	3	0	0	2	3.1	-	Dr.	sferic	gălbui albicios	dur	hipotrofie	normal	
35	29	21	11	5	1	1	0	4.9	St.	-	ovoid / aplatizat	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
36	11	9	5	3	0	0	0	1.8	-	Dr.	sferic	gălbui albicios	dur	hipotrofie	normal	
37	29	25	9	9	0	1	1	5.2	-	Dr.	ovoid / aplatizat	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
38	25	21	11	20	0	0	0	5.1	St.	-	ovoid / aplatizat	roz - pal	dur -elastic	funcțional	metrită necrotică	
39	21	11	10	1	0	0	0	4.8	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur	Chist CL	endometrită	
40	21	11	10	0	0	0	0	5	-	Dr.	globulos / cilindric	roz - pal	dur	chist CL	normal	
41	30	12	9	7	0	0	1	4.7	-	Dr.	ovoid / aplatizat	roz	dur -elastic	funcțional	bridă post cervicală	
42	22	23	18	0	0	0	0	6.2	St.	-	sferic	roz	dur	chist CL	normal	
43	43	38	22	0	0	0	0	7.8	-	Dr.	globulos / cilindric	roz aprins	fluctuenta	chist ov. F	normal	
44	23	18	12	14	0	1	1	3.5	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	bridă post cervicală	
45	25	20	12	7	0	0	1	5.5	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
46	33	28	17	0	0	0	0	5.4	St.	-	globulos / cilindric	roz - pal	fluctuenta	chist ov. F	normal	
47	25	23	14	13	2	0	1	4.2	-	Dr.	globulos / cilindric	roz - pal	dur -elastic	funcțional	normal	
48	22	18	13	7	0	1	0	3.1	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	chist Luteinic	endometrite cronică	
49	28	22	15	8	0	0	1	5.8	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	elastica	funcțional	normal	
50	27	22	18	15	2	0	1	4.8	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
51	23	17	13	6	0	0	1	3.6	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	endometrită	
52	16	12	9	8	0	0	1	3.3	St.	-	sferic	roz - pal	dur	hipotrofie	normal	
53	27	19	15	12	1	0	1	5.3	St.	-	ovoid / aplatizat	roz - pal	elastica	funcțional	normal	
54	22	17	12	6	1	1	0	4.5	-	Dr.	sferic	gălbui albicios	dur	hipotrofie	normal	
55	24	16	14	5	0	0	1	4.6	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	aderente	
56	26	19	15	10	0	0	1	5.5	St.	-	globulos / cilindric	roz	elastica	funcțional	normal	
57	25	14	12	6	0	1	0	4.2	-	Dr.	ovoid / aplatizat	roz - pal	dur -elastic	funcțional	metrită necrotică	
58	22	16	12	9	0	1	0	4.6	St.	-	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	
59	26	16	11	6	0	1	0	4.6	-	Dr.	globulos / cilindric	roz - pal	elastica	funcțional	normal	
60	23	17	12	10	1	0	1	5.1	St.	-	globulos / cilindric	roz - pal	dur -elastic	funcțional	normal	
61	20	15	10	5	1	0	1	3.4	St.	-	globulos / cilindric	roz - pal	dur -elastic	hipotrofie	normal	
62	24	18	13	15	0	1	0	3.8	-	Dr.	globulos / cilindric	roz	dur -elastic	funcțional	normal	



Fig. 11.12 Ovar de bivoliță cu foliculi evolutivi și un mic corp luteal în faza de involuție (albicans)

Fig. 11.12 Buffalo ovary with evolutionary follicles and a small luteal body in the involution phase (albicans)

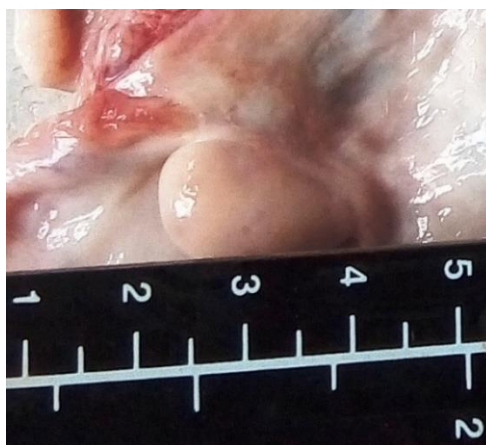


Fig. 11.13 Ovar de bivoliță cu dimensiunea de 2/1,5 cm, cu aspect globulos, lucios, de culoare roz pal

Fig. 11.13 Ovary buffalo size of 2 cm / 1.5 cm, globular appearance, shiny, pale pink

Au fost înregistrate observații biometrice, adică: lungimea, lățimea, grosimea ovarelor și greutatea acestora. Pentru ovarul stâng s-au înregistrat următoarele date: lungimea medie a fost de 23,45 mm, lățimea medie de 18,20 mm, și grosimea medie a fost 13,10 mm; respectiv pentru ovarul drept: lungimea medie a fost de 25,20 mm, lățimea medie de 18,30 mm, și grosimea medie a fost 13,20 mm. Greutatea medie a ovarului stâng a fost de 4,46 g și cea a ovarului drept a fost de 4,60 g.

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.

Datele înregistrate în urma acestui studiu au fost comparate cu cele ale altor cercetători și s-au dovedit a fi asemănătoare (tabel 11.3).

Conform rapoartelor din literatura de specialitate, ovarul de bivoliță a prezentat greutate medii de 4,6 g (Vale și Ribeiro, 2005) și 5,01 g (Waheed, 2011). Danell (1987) a observat greutate medii de $3,44 \pm 1,29$ g (OS) și $3,59 \pm 1,54$ g (OD) în urma unui studiu pe 30 de bivolițe ciclice.

În urma examinării macroscopice a ovarelor de bivoliță s-a constatat că majoritatea au fost funcționale (72,58%), respectiv prezentau foliculi ovarieni sau corpi luteali în diverse faze de evoluție (fig. 12.14). Pe trei ovare din cele 62 examinate s-au identificat corpi luteali gestativi (4,84%). În fig. 12.17 este prezentat un ovar de bivoliță cu folicul dominant, ovarul are 2 cm lungime și 1 cm lățime și prezintă un folicul dominant de aproximativ 0,6 cm. În plan superior se observă două formațiuni sferice de 5 mm și 10 mm localizate parasalpingian,

la nivelul mezosalpinxului. Aceste formațiuni chistice detașate nu afectează permeabilitatea salpinxului.

Tabelul 11.3

Dimensiuni medii ale ovarelor de bivoliță, după unii autori

Table 11.3

Average dimensions of buffalo ovaries, according to some authors

REFERINȚE	OVAR STANG				OVAR DREPT			
	Lungime mm	Lățime mm	Grosime mm	Greutate g	Lungime mm	Lățime mm	Grosime mm	Greutate g
Dyce și Weinsing, 2009	24.7	14.1	14.8		25.4	14.5	15.7	
Parkale și Hukeri, 1989	24.8	16.7	14.6		24.4	17.4	14.6	
Kumar V. și Sharma, 2015	38.9	15.6	18.2	4.08	41.4	16.2	19.6	4.32
Terra di Bufalla	23.45	18.2	13.1	4.46	25.2	18.3	13.2	4.6

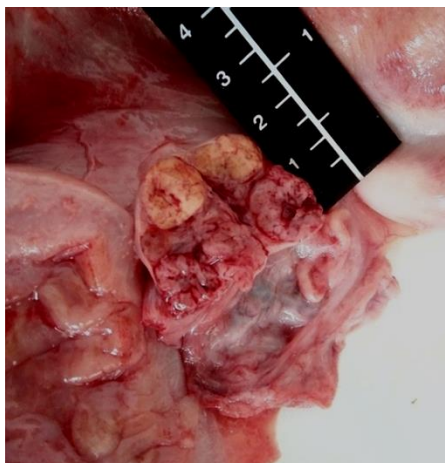


Fig. 11.14 Ovar de bivoliță cu doi corpi luteali (aspect pe secțiune), unul în faza active, de culoare vișinie și celălalt în faza de involuție, de culoare gălbuie

Fig. 11.14 Buffalo ovary with two luteal bodies (sectioned appearance), one in the active phase, cherry in color and the other in the involution phase, yellowish in color

Afecțiunile ovariene diagnosticate pe ovare au fost hipotrofii ovariene de grad I (14,51%), chiști ovarieni (11,29% din care 42,86% au fost reprezentați de chiști ai corpului luteal, 28,57% chiști foliculari luteinici și 28,57% de chiști ovarieni foliculari) și aderențe ovaro-bursale (1,61%).

Aderențele ovaro-bursale rezultă din adeziunea dintre mezosalpinx și mezovarium, incluzând adesea bursa și ovarul. Mărimea aderențelor variază în funcție de exemplar, prezentând șuvițe subțiri ca o pânză în adâncimea bursei ovariene, care nu implică oviductul, până la cazuri de învăluire completă

a ovarului într-o bursă fibroasă. Afecțiunea este neobișnuită la junici, dar incidența acesteia crește odată cu vârsta bivolului.

Multe evaluări anterioare de abator au evidențiat o incidență care variază de la 0,88% -19,04% (tabel 11.4). Cu toate acestea, evaluările clinice au înregistrat o incidență mai mică de 3% probabil din cauza dificultăților în diagnosticarea clinică. Rezultatele obținute de noi prin evaluarea ovarelor bivolitelor se încadrează în datele din literatură, fiind de doar 1,61%.

Tabel 11.4

Incidența afecțiunii aderențe ovaro-bursale la bivolițe în diferite studii exprimată în procente

Table 11.4

The incidence of ovarian adhesion conditions in buffaloes in various studies

REFERINȚE	Țară	Număr bivolițe abatorizate	Afecțiune (%)
Azawi, 2008	Irak	556	6,4 - 19,04
Emandi M., 2003	Iran	150	2,7
Vala K.B., 2008	India	556	1,41 - 9,16
Azab AMSM, 2005	Egipt	340	0,88
Khan A., 1989	Pakistan	640	5,3 - 13,67
Terra di Bufala	România	31	1,61

Tabelul 11.5

Incidența chiștilor ovarieni la bivolițe, în diferite studii, exprimată în procente

Table 11.5

Incidence of ovarian cysts in buffalo cows, in various studies, expressed as a percentage

REFERINȚE	Țară	Număr bivolițe abatorizate	Afecțiune (%)
Saxena G, 2006	India	6551	2,77
Azawi OI, 2008	Irak	551	1,5 - 4,2
Khan APA, 1992	Pakistan	150	5,3
Youssef FA, 1991	Egipt	518	2,64 - 6,2
Emandi M., 2003	Iran	150	8,0
Ohashi OM, 1984	Brazilia	590	1,69
Terra di Bufala	România	31	11,29

Chistul ovarian reprezintă o formațiune patologică în care pe ovar există structuri umplute cu fluid, cu diametrul mai mare de 2-2,5 cm, ce persistă un

anumit timp, fără a se produce ovulația (fig. 11.15). Chiștii ovarieni se grupează în chiști foliculari și chiști luteali.

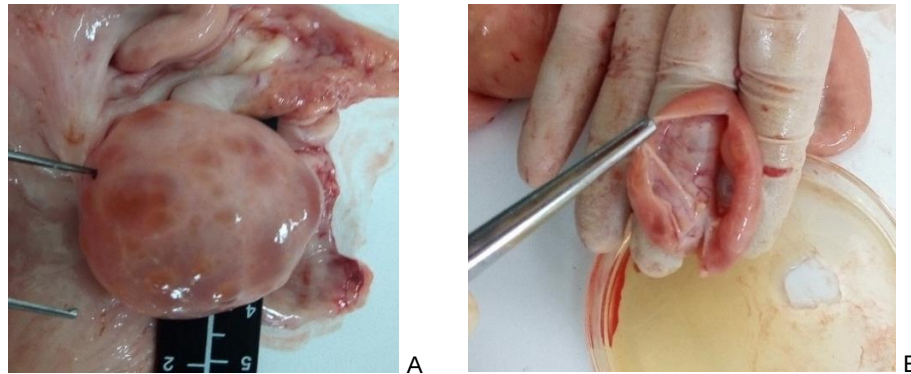


Fig. 11.15 Ovar polichistic la bivoliță. A. Aspect macroscopic. Ovarul prezintă o formă aproape sferică, cu suprafața ușor dantelată. Mărimea ovarului este de aproximativ 4 cm. Peretele subțire lasă să se observe un lichid translucid gălbui în interior. B. Secțiune

Fig. 11.15 Polycystic ovary in buffalo. A. Macroscopic appearance. The ovary has an almost spherical shape, with a slightly laced surface. The size of the ovary is about 4 cm. The thin wall reveals a yellowish translucent liquid inside. B. Section through the ovary.

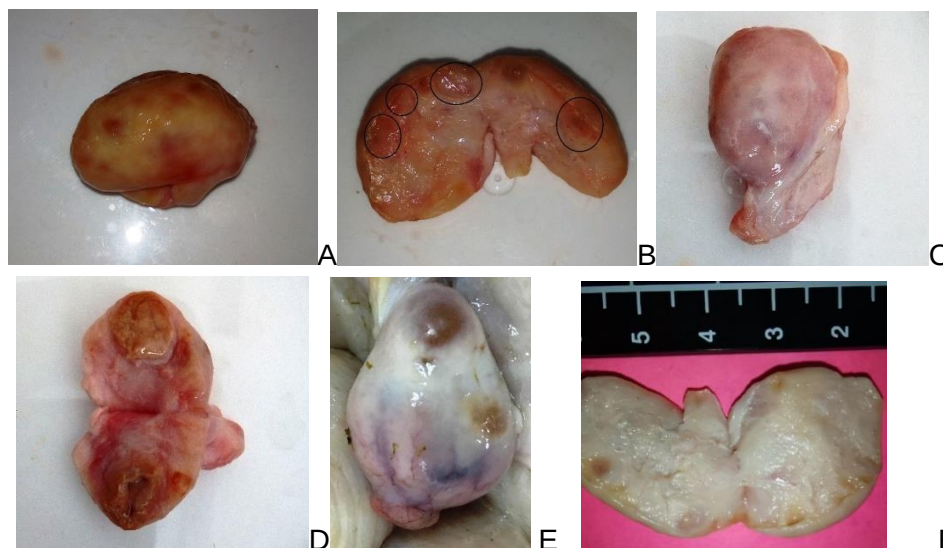


Fig. 11.16 Ovare de bivoliță, macroscopic. Ovar globulos cu foliculi cavitari (A, C) și aspectul lor pe secțiune (B, F), secțiune ovar CL în organizare (D), Ovar cu CL chistic (E).

Fig. 11.16 Buffalo ovaries ,macorscopic Globular ovary with cavitary follicles (A, C) and their appearance on section (B, F), CL ovarian section in organization (D), Ovary with cystic CL (E).

Frecvența chistului folicular este mai mare decât cea a chistului luteal, fapt dovedit și de studiul nostru (chiști foliculari identificați au fost în procent de 8,06%, în timp ce chiști ai corpului luteal au fost doar 3,22%). Chiștii ovarieni

sunt mai puțin frecvenți la bivoli, iar majoritatea studiilor clinice înregistrează o incidență cuprinsă între 0,5% și 1,48%, în timp ce unele studii de abator au înregistrat o incidență relativ mai mare (tabelul 11.5).

Incidența chiștilor ovarieni determinată în studiu de față este mult peste datele oferite de alți cercetători (11,29%), un motiv ar fi faptul că proprietarul a trimis la abatorizare exemplarele de bivolițe care nu mai erau eficiente din punct de vedere reproductiv.

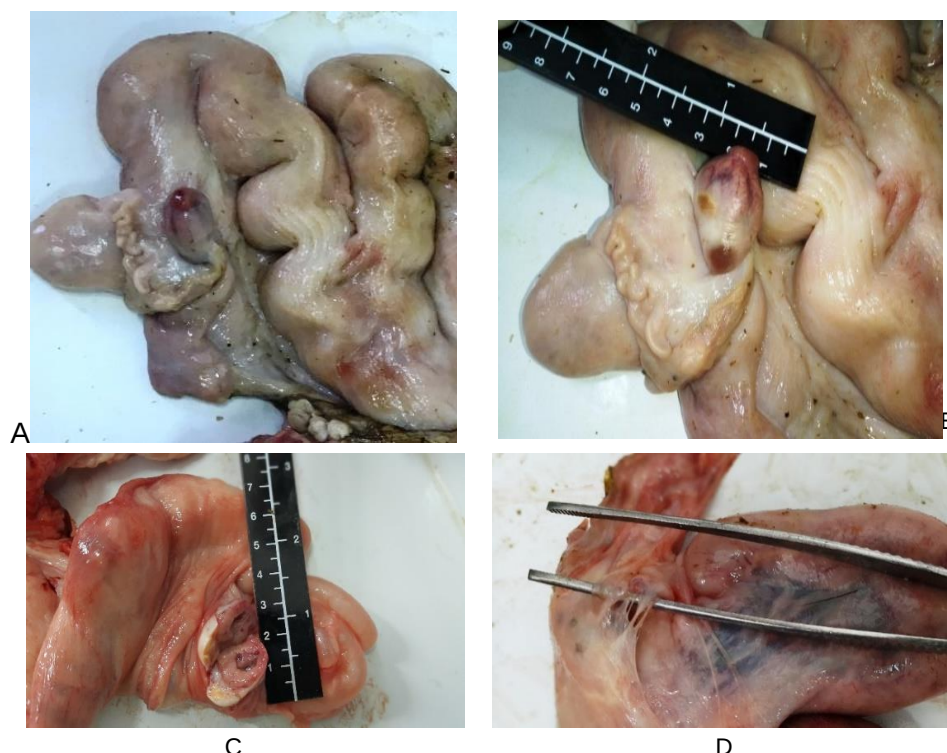


Fig. 11.17 Aspecte macroscopice patologice utero-ovariene. Hidrosalpinx unilateral stâng (A), chist parasalpingian și ovar polichistic (B), chist al CL (C), aderențe parauterine (D).

Fig. 11.17 Pathological macroscopic aspects of utero-ovaries. Left unilateral hydrosalpinx (A), parasalpingian cyst and polycystic ovary (B), CL cyst (C), parauterine adhesions (D).

11.2.2 Aspecte histologice ale ovarelor și uterului la bivoliță

Probele histologice prelevate de la ovare au relevat că acestea se aflau atât în stare de funcționalitate fiziologică cât și cu patologii, au fost evidențiate structuri distincte din corticală și medulară.

În urma examinării preparatelor histologice obținute din fragmente de ovare au fost observați foliculi ovarieni în diferite stadii de dezvoltare, distribuiți

în cortex. Foliculii primordiali au fost prezenți în partea exterioară a cortexului înconjurați de un singur strat de celule scuamoase, constând în ovocite fără zona pelucidă (fig. 11.21 și fig. 11.22).

Kumar V. și Sharma A. (2015), în urma unui studiu histologic similar asupra ovarelor de bivolițe Jaffrabadi, prelevate dintr-un abator din India, au raportat dimensiuni medii ale epiteliului de 4,26 μm (Kumar și Sharma, 2015).

Cortexul cuprinde epiteliul de suprafață, tunica albuginee și diferiți foliculi ovarieni și corpi luteali. Suprafața ovariană era căptușită de epiteliu cuboidal. La suprafața cortexului, s-au observat foliculi ovarieni și țesut din corpi luteali. Ca structuri histologice frecvent identificate au fost identificați foliculii primordiali, situați între mănunchiurile de țesut conjunctiv. Acești foliculi primordiali erau alcătuiți dintr-un ovocit și un strat de celule epiteliale. Diametrul lor mediu, inclusiv stratul extern a fost de aproximativ 25 μm .

Foliculii primari erau căptușiți de un singur strat de celule cuboide. Diametrul mediu al foliculilor primari era de aproximativ 40 μm .

Foliculii secundari au fost caracterizați de un ovocit înconjurat de două sau mai multe straturi de celule granuloase închise într-o membrană bazală (fig. 11.18 - fig. 11.20). Diametrul foliculilor secundari a măsurat în medie 75 μm . În foliculul secundar, s-a observat că ovocitul era înconjurat de o zona pelucidă bine dezvoltată. Grosimea acestei zone pelucidă a foliculului secundar s-a înregistrat ca fiind de aproximativ 7 μm .

Datele morfometrice înregistrate în acest studiu la Bivolul românesc Indigen se aseamănă cu cele prezentate anterior de Bhardwaj și Roy (2006) care au înregistrat diametrul foliculului secundar ca 81,77 μm și grosimea zona pelucida a foliculului secundar ca având 4,77 μm , iar Kumar și Sharma (2015) 74,2 μm și granuloasa de 7,6 μm .

În corticală, sub albuginee, au fost identificați foliculi secundari cu ovocite dezvoltate și înconjurați de o membrană evidentă. În jurul acestei membrane, au fost evidențiate celule cuboide și prismatice cu funcție trofică (coroana radiata). Cea mai externă structură a fost membrana țesutului conjunctiv al foliculilor tecal, care posedă celule epitelioides și capilare mici (fig. 11.18, fig. 11.20).

Foliculii terțiari au fost evidențiați către medula parenchimului ovarian, având un diametru mai mare și fiind ușor vizibili. Acești foliculi aveau cavități de fluid folicular bine dezvoltate și erau înconjurați de epiteliu folicular. Dimensiunile structurale au evidențiat: teaca externă de aproximativ 36,3 μm , teaca internă 30,1 μm și granuloasa de 56,8 μm .

Foliculii dominanți cu diametru mai mare de 9 mm, au fost identificați, de obicei solitari în masa corticalei. Toate structurile foliculare au fost bine evidențiate și au variat ca dimensiuni. Teaca externă nu a avut un aspect foarte evident, diferența de stromă ovariană făcând-o orientarea celulară a tecilor

foliculare, cu dimensiunea tecii externe (TE) de 144 μm , teaca internă (TI) prezenta celule globuloase și cu nucleu bine evidențiat fiind de aproximativ 99 μm , iar printre acestea s-a observat o abundență a vaselor sangvine reprezentate de capilare tecale (CT) (fig. 11.20).

Membrana Slavjansky a fost reperată ca o linie subțire dintre granuloasă și teaca internă. Granuloasa cu o dimensiune oscilantă de aproximativ 66,6 μm , este formată din celule mai dense și cu nucleu evident ce ocupă o bună parte din celulă (fig. 11.18 și fig.11.20).

Discul proliger s-au *cumulos ooforum* pare a fi o aglomerare de celule ale granuloasei ce înalță spre lumenul folicular coroana radiată și ovocita. Nu au fost observate ovocite în toate frotiurile cu foliculi terțiari (fig. 11.19 și fig.11.24)

Corpui luteali erau formați din celule luteale mari cu aspect vacualizat și cu nucleu centrali, au fost identificate și picături de lipide citoplasmice. De asemenea, au fost vizualizate celule mici luteale sub formă de fascicule și nucleu excentrici. De asemenea s-au mai constatat prezența eozinofilelor plasmactice printre celulele luteale (fig.11.23). S-au mai identificat zone rare, cu aspect insular, bogate în amiloid și reticulină, acestea reprezentând structuri ale CL în involuție (corpus albicans), cu dimensiune medie de 697 μm (fig. 11.23).

Partea centrală a ovarelor, medulara, s-a identificat ca fiind formată din țesut conjunctiv, vase de sânge, vase limfatice și fibre nervoase. Țesutul conjunctiv medular a fost format din fibrocite și celule fibroblastice, collagen și fibre reticulare. Constatări similare au fost observate de către Eurell și Frappier (2006) și Kumar și Sharma (2015).

Tunica albuginee cuprinde țesut conjunctiv bogat în fibre de collagen. Țesutul conjunctiv al acesteia a fost aranjat în 2-3 straturi. Cu toate acestea, Bhardwaj și Roy (2004) la bivoul indian, au înregistrat înălțimea medie a epitelului și grosimea tunicii albuginee ca având 5,68 μm și respectiv, 76 μm . Baragoth (2014) a înregistrat că grosimea tunica albuginea la ovarele de bivoliță din faza foliculară de 115,14 μm .

După Kumar și Sharma (2015) diametrul mediu al foliculilor primordiali a fost de 26,37 μm . Wezel și Rodgers (1996) au înregistrat dimensiunile maxime și minime ale foliculilor primordiali ca fiind de 38,0 și respectiv 28,9 μm la bovine (Bhardwaj și Roy 2006).

La nivelul salpinxului în zona ampulară, s-a dimensionat o musculoasă de 366 μm sub formă de fibre, fiind intercalată de vase sangvine. Mucoasa de 1492 μm avea un aspect dantelat cu multe pliuri și zone amfracuase cu epiteliu ciliat prismatic (fig. 11.24).

La nivel uterin endometru are un aspect vacuolizat între 1260 - 1923 μm observându-se frecvente glande secretoare cu un diametru de 31 μm cu o membrana bazofilă (fig. 11.26).

Miometru este foarte evident cu multe fibre și fascicule musculare, iar între acestea sunt identificate o vastă rețea de vase sangvine. Aceste plexuri venoase au aspect aglomerat și sunt constituite din arteriole și venule. Arterele au aspect cilindric cu lumen rigid, uneori se observă hematii, iar venulele au un perete subțire și aspect dilatat lacunar (fig. 11.26). Musculoasa apare mai îngroșată cu dimensiuni între 2247 și 3577 μm (fig. 11.27).

Grosimea peretelui uterin, aspectul miometrului cu vase abundente, plexurile venoase aglomerate cu venule lacunare, dar și colabate și arteriole cilindrice fac să demonstreze că la bivolițe uterul are structuri tonice și kinetice din abundență. Caracteristicile ginecologice ale uterului de bivoliță, constatate la examenul transrectal, sunt o consecință a ectaziei și congestiei rapide a structurilor identificate histologic. Este posibil ca plexurile vasculare din miometru să dețină un număr foarte mare de receptori pentru ocitocină.

11.2.3 Aspecte histopatologice ale ovarului și uterului la bivoliță

În urma examenului macroscopic – obstetrical, uterele și ovarele cu afecțiuni au fost examinate și din punct de vedere histopatologic.

Astfel la uterele cu endometrită necrotică (consecutivă torsiunii uterine) s-au la cele cu endometrită cronică purulentă, s-au observat mucoasa degenerată și uneori denudată s-au cu aspect necrotic și sfacelat, iar în corion și submucoasă, fibroză și amiloidoză. De asemenea, glandele endometriale sunt degenerate sever și infiltrate cu amiloid. (fig. 11.32 și fig. 11.33).

În cazul endometritelor puerperale mai puțin grave (cataral - purulente) s-au observat insule hemoragice în corionul endometrului și degenerarea leiocitelor în miometru.

În cazul metritei purulente consecutivă retenției anexelor fetale, a fost observată degenerarea endometrului și miometrului (fig. 11.34), leiocitele par ondulate și fragmentate.

Leiocitele din media arterelor uterine de tip muscular apar degenerate, vacuolizate și infiltrate cu lipide în cazul inflamațiilor uterine cronice. Amiloidoza severă a corionului este o consecință a inflamațiilor cronice reactive, amiloidul fiind o proteină amorfă ce duce la o inflamație cronică (fig.11.33). Folliculii ovarieni evolutivi – cavitari au granuloasa vacuolizată și încărcată în lipide (fig.11.28), iar la nivelul tecilor foliculare se identifică capilare sangvine ectaziate (fig. 11.29).

La nivelul ovarelor, principalele afecțiuni examinate la bivoliță au fost chiștii foliculari care au un aspect lamelar cu granuloasă detașată. Peretele

chistului pare întrerupt, orientat înspre cavitatea cu lichid (fig. 11.30). Structura peretelui chistic este bine evidențiată, densă cu orientare cavitară, și cu o dimensiune medie de 1419 μm (fig. 11.31).

De asemenea, se observă vase de neoformație, structuri fibroase și collagen prezent în peretele chiștilor ovarieni, compresat de conținutul lichid, ce uneori se detașă parțial (fig.11.30) s-au se organizează sub forma de microcavitați multiple.

Vasele sangvine ovariene cu localizare parachistică au leiocitele vacuolizate și denaturate cu dimenisuni de aproximativ 50 μm și dezorganizarea mediei arteriale.

Imagini histologice

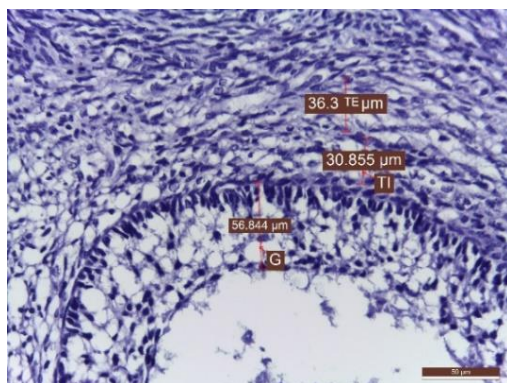


Fig. 11.18 Ovar bivoliță, col. HEA. Structura unui folicul terțiar de bivoliță.

Fig.11.18 Buffalo ovary, col. HEA. The structure of a tertiary buffalo follicle TE – teaca externă, TI – teaca internă, G – granuloasa

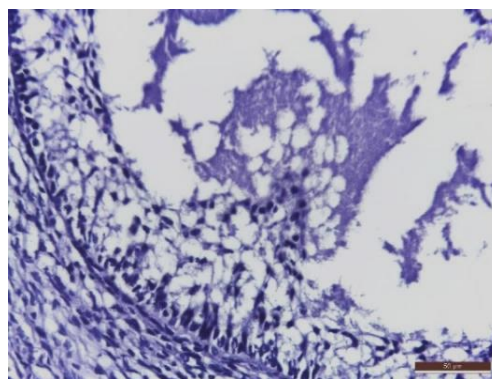


Fig. 11.19 Ovar bivoliță, col. HEA. Aspectul granuloasei și al discului proliger la un folicul dominant
Fig.11.19 Buffalo ovary, col. HEA. Appearance in detail

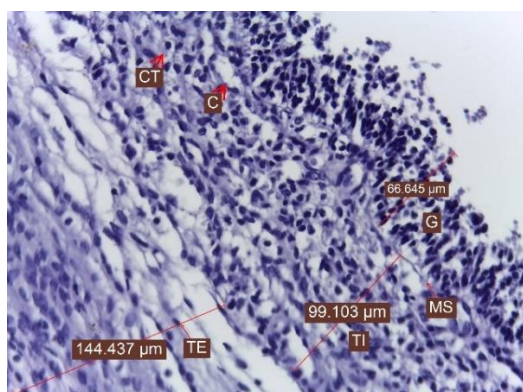


Fig. 11.20 Ovar bivoliță, col. HEA. Structura peretelui foliculului preovulator la bivoliță. TE în diametru de 144 μm , TI cu dimensiunea de 99 μm , cu celule secretorii, membrana Savjanski cu delimitare distinctă, granuloasa (G) de 66 μm

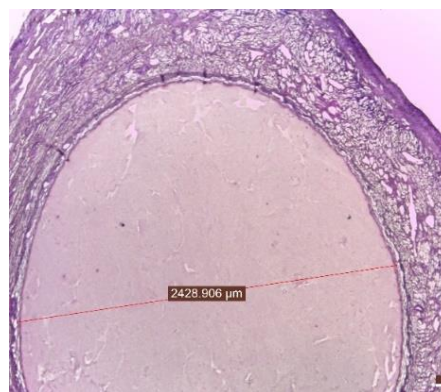


Fig. 11.21 Ovar bivoliță, col HEA. Folicul cavitar de 2,4 mm. Antrul ocupat cu lichid folicular
Fig. 11.21 Oval buffalo, HEA collar. 2.4 mm cavity follicle. Follicle occupied with follicular fluid

Fig. 11.20 Preovulatory follicle wall structure

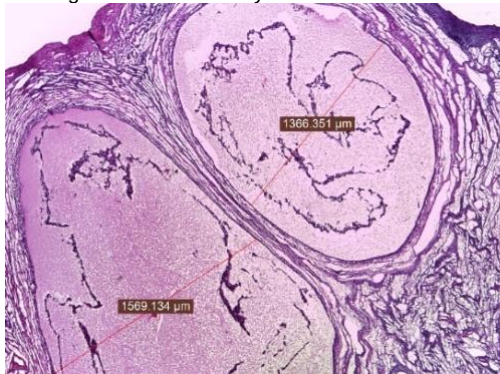


Fig. 11.22 Ovar bivoliță, col HEA. Doi foliculi cavitari în evoluție, între 1,3 – 1,5 mm

Fig. 11.22 Oval buffalo, col HEA. Two evolving cavitory follicles, with a diameter between 1.3 - 1.5 mm

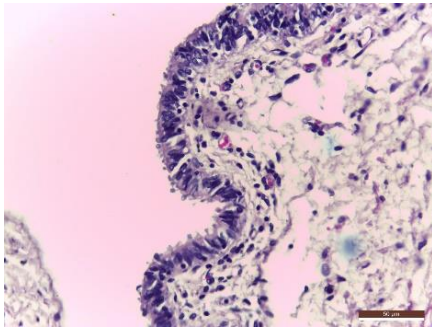


Fig. 11.24 Oviduct de bivoliță, col HEA. Se observă epiteliu dantelat cu aspect ciliat prismatic. Mucoasa oviductului predomină, iar musculoasa este sub forma unor fibre rarefiate și intercalate de vase

Fig. 11.24 Oviduct of buffalo, col. HEA.

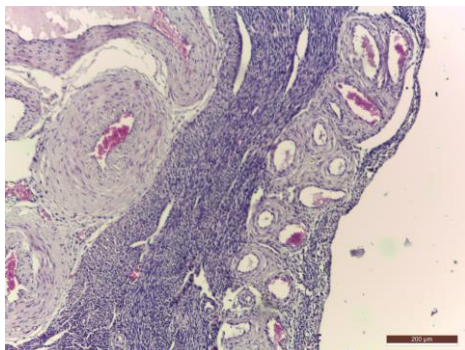


Fig. 11.26 Uter bivoliță, vascularizație, col PAS. Mucoasa are un aspect vacuolizat, pe baza activității secreției intense glandulare. Miometrul este foarte evident cu multe fibre musculare. Între leucite se identifică o rețea bogată de vase aglomerate

Fig. 11.26 Buffalo uterus, vascularization

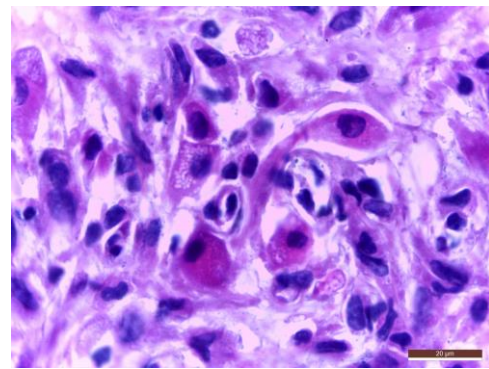


Fig. 11.23 Ovar de bivoliță, col. HEA. Corp luteal. Printre celulele luteale mari se observă eozinofile plasmatice de culoare roz

Fig. 11.23 Buffalo ovary, col. HEA. CL

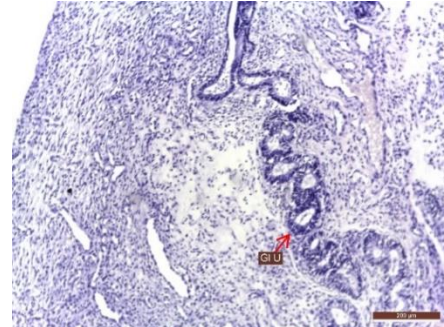


Fig. 11.25 Uter de bivoliță, col.HEA. Aspectul glandelor uterine din lamina propria, cu canale sinuoase și traectorie tubular rectilinie

Fig. 11.25 Buffalo uterus, col.HEA. The appearance of the uterine glands

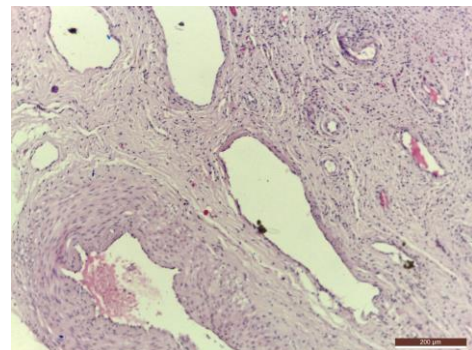


Fig. 11.27 Plex vascular uterin, col. PAS. Compus din artere, vene și capilare. Artera din imagine prezintă hematii captive, venele sunt dilatate și cu pereții subțiri, iar capilarele au diverse calibre și prezintă hematii

Fig.11.27 Uterine vascular plexus, col.PAS.

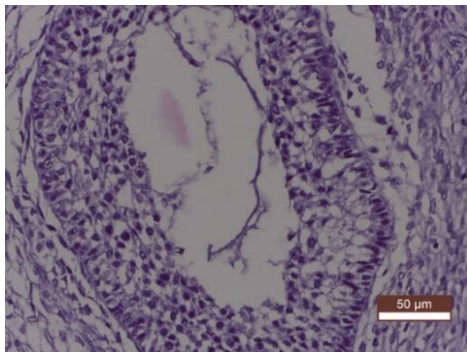


Fig. 11.28 Ovar de bivoliță cu foliculi, col. HEA.
Foliculi evolutivi (secundari și terțiari) cu
granuloasa încărcată în lipide
Fig.11.28 Follicle ovary with follicles, HEA.

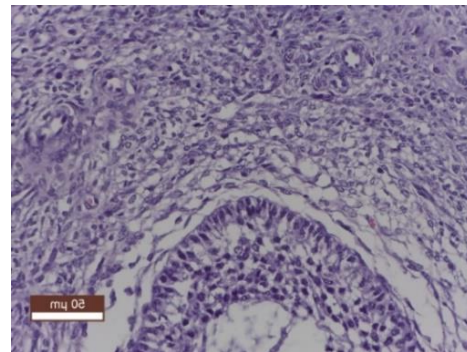


Fig. 11.29 Ovar de bivoliță, col. HEA. Folicul cavitat.
Teaca externă a foliculului cu capilare sangvine ectaziate.
În plan superior sunt vizibili foliculii primordiali
Fig.11.29 Buffalo ovary, col. HEA. Cavitary follicle.

Imagini histopatologice ale ovarului și uterului la bivoliță



Fig.11.30 Ovar de bivoliță, col. HEA. Chist
folicular Peretele chistului folicular prezintă
detașarea granuloasei. Dimensiunea 2,4 mm
Fig. 11.30 Buffalo ovary, col. HEA. The cyst wall

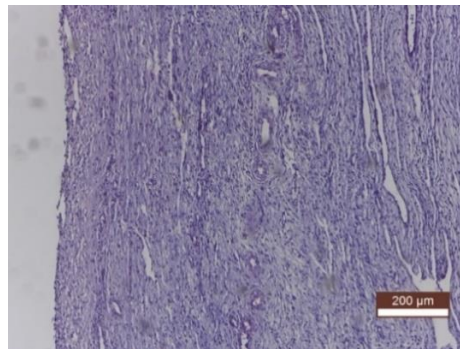


Fig. 11.31 Perete chist ovarian bivoliță, col.HEA.
Structura bine evidențiată densă cu orientare
cavitară
Fig. 11.31 Buffalo ovarian cyst wall, col.HEA

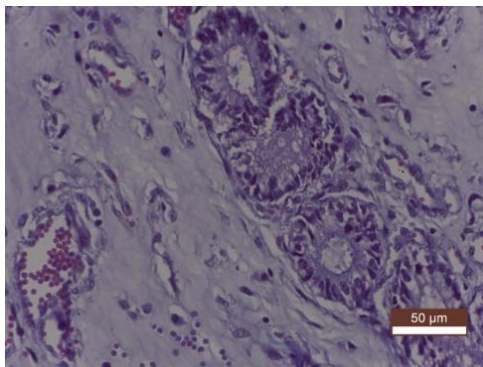


Fig. 11.32 Uter bivoliță. col. HEA. Necroza
glandelor endometriale. Amiloidoză în
submucoasă
Fig. 11.32 Buffalo uterus. col. HEA. Necrosis of the
endometrial glands

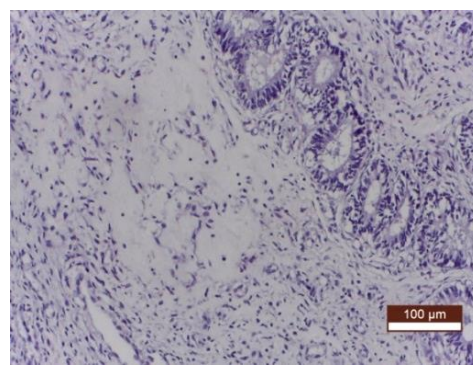


Fig. 11.33 Uter bivoliță, col. HEA. Amiloidoza
severă a corionului. Amiloid imun, consecință a
endometritei purulente cornice. Celule inflamatorii
reactive.
Fig. 11.33 Buffalo uterus, col. HEA. Severe
amyloidosis of the chorion.

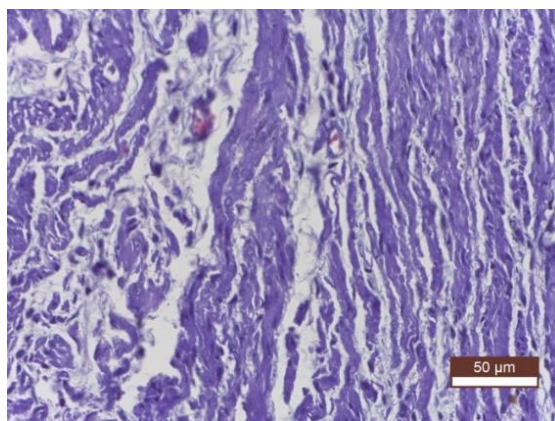


Fig. 11. 34 Uter bivolită, col. HEA. Aspect de ansamblu al degenerării endometrului și miometrului în cazul unei metrite purulente consecutive retenției anexelor fetale
Fig. 11. 34 Buffalo uterus, col. HEA. Overview of endometrial degeneration

11.2. Concluzii parțiale

1. Organele genitale tubulare la bivoliță sunt, în general, mai musculare și mai rigide, cornul uterin este mai sinuos decât la vaci, iar cervixul este mai îngust.
2. 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.
3. La bubaline, tonicitatea peretelui uterin fiind crescută, peretele uterin pare mai dezvoltat, vasele sangvine au un aspect ondulat. Toate aspectele descrise, asociate și cu perioada de gestație mai mare decât la bovine, fac ca evidențierea gestației la bubaline să fie mai întârziată.
4. După screening-ul obstetrical morfologic, s-a constatat că 74,20% dintre utere erau normale ca dezvoltare și status funcțional, infecția uterină a prezentat cea mai mare frecvență (9,67%), urmată de aderențe uterine (3,22%) și brida postcervicală (3,22%).
5. 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.
6. Studiul morfologic asupra ovarelor de bivolițe de la ferma Terra di Bufala a arătat că forma ovarelor a fost ovală alungită sau ovoid aplatizată. Ovarele de dimensiuni mari cu foliculi prezenți pe suprafață au avut o formă

sferică, globuloasă. Suprafața ovarelor cu foliculi mici și proeminenți a fost netedă iar unele ovare din fază luteală au avut consistență dură.

7. Observațiile biometrice ale ovarului stâng relevă o lungime medie de 23,45 mm, lățimea 18,20 mm și grosimea 13,10 mm, respectiv 25,20 mm, 18,30 mm, 13,20 mm pentru ovarul drept. Greutatea medie a ovarului stâng a fost de 4,46 g și cea a ovarului drept a fost de 4,60 g.

8. 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.

9. Afecțiunile ovariene diagnosticate au fost hipotrofii ovariene de grad I (14,51%), chiști ovarieni (11,29% din care 42,86% chiști ai corpului luteal, 28,57% chisti luteinici și 28,57% chisti foliculari) și aderențe ovaro-bursale (1,61%).

10. La Bivolul Indigen Românesc, dimensiunile foliculilor primordiali și evolutivi și grosimea straturilor foliculilor cavitari se încadrează în măsurătorile raportate la bivolițele din țările din Asia și sunt mult mai asemănătoare cu cele ale bivolițelor europene (Bulgaria, Italia).

11. La nivelul ovarelor, principalele afecțiuni au fost chiștii foliculari care au un aspect lamelar cu granuloasă detașată. Peretele chistului pare întrerupt orientat înspre cavitatea cu lichid. Structura peretelui chistic este bine evidențiată, densă cu orientare cavitara, și cu o dimensiune medie de 1419 μ m. Deasemenea se observă vase de neoformație, structuri fibroase și collagen prezent în peretele chistilor ovarieni, compresat de conținutul lichid, ce uneori se detașă parțial, s-au se organizează sub forma de microcavități multiple.

12. La uterile cu endometrită necrotică și cu endometrită cronică purulentă, s-au observat mucoasa degenerată și uneori denudată s-au cu aspect necrotic și sfacelat iar în corion și submucoasă, fibroză și amiloidoză. Deasemenea glandele endometriale sunt degenerate sever și infiltrate cu amiloid.

13. Leiocitele din media arterelor uterine de tip muscular apar degenerate, vacuolizate și infiltrate cu lipide în cazul inflamațiilor uterine cronice. Amiloidoza severă a corionului este o consecință a inflamațiilor cronice reactive, amiloidul fiind o proteina amorfă. Foliculii ovarieni cavitari au granuloasa vacuolizată și încărcată în lipide, iar la nivelul tecilor foliculare se identifică capilare sangvine ectaziate.

14. Grosimea peretelui uterin, aspectul miometrului cu vase abundente, plexurile venoase aglomerate cu venule lacunare, dar și colabate și arteriole cilindrice fac să demonstreze că la bivolițe uterul are structuri tonice și kinetice din abundență. Aceste caracteristici ginecologice ale uterului de bivoliță, constatate la examenul transrectal, sunt o consecință a ectaziei și congestiei rapide a structurilor identificate histologic.

12. UTILIZAREA ULTRASONOGRAFIEI ÎN MONITORIZAREA FUNCȚIEI DE REPRODUCȚIE LA BIVOLIȚE

12. USE OF ULTRASONOGRAPHY IN MONITORING THE REPRODUCTIVE FUNCTION IN BUFFALOES

Într-un program de management al reproducerii la rumegătoare ecografia reprezintă o etapă importantă. Diagnosticul cât mai timpuriu a gestației, a resorbției embrionare, controlul dinamicii foliculare și a corpului luteal cu privire la managementul reproducerii și a programelor de sincronizare, diagnosticul sexului fetal și monitorizarea fiziopatologiei ovariene și uterine sunt valoroase din punct de vedere economic la bubaline.

12.1 Material și metodă

Conform studiilor efectuate în diferite țări, perioada de gestație a bivoliilor este variabilă fiind cuprinsă între 281 - 334 de zile, dar cele mai multe studii dau limite cuprinse între 310 și 330 zile. În țara noastră, durata medie de gestație la bivolițe este de 313,57 – 315,10 zile (Runceanu ș.a., 2012).

La ora actuală sunt disponibile mai multe date științifice privind aplicarea ultrasonografiei în timp real pentru diagnosticarea gestației la bivoli (Tomai, 2015) și chiar pentru determinarea sexului fetal.

Prin ecografie se poate diagnostica starea de gestație începând cu a 17-a zi de la montă s-au însămânțare artificială (Livia Vidu și Bota, 2014). Aplicarea și metodele detaliate pentru efectuarea ultrasonografiei trans-rectale pentru cercetarea reproductivă au fost revizuite și descrise în detaliu la bivoli în capitolul Bubaline Theriogenology, Purohit G.N. (2013) din International Veterinary Information Service (IVIS).

12.2 Diagnosticul și monitorizarea gestației

Stabilirea diagnosticului de gestație se realizează prin metode clinice (sindromul de neîntoarcere la estrus, examenul transrectal), metode imagistice (ultrasonografia uterină) și metode de laborator (dozarea progesteronului din plasmă și lapte, dozarea proteinelor asociate gestației).

Ultrasonografia a câștigat o popularitate extraordinară în ultimii ani ca instrument de diagnosticare în știința veterinară. Aplicații diverse pentru ultrasunografie, îmbunătățirea continuă a calității imaginii, disponibilitatea scanerelor portabile cu ultrasunete și echipamente mai rentabile au dus la acceptarea generală a acestora în practica veterinară.

În vederea realizării ecografiei trans-rectale, trebuie efectuată o conținție minimă a bivolitelor în stand special și se execută vidarea rectului de fecale. Sonda ecografului cu frecvențe între 5,0-7,5 MHz, protejată într-un manșon și lubrifiată cu gel ultrasonografic este introdusă în rect și coarnele uterine sunt scanate secvențial.

Vizibilitatea anexelor fetale și a embrionului este treptată la bubaline. Cea mai timpurie indicație a gestației este vizualizarea veziculei embrionare în ziua 19 - 20. Aceasta apare ca o zonă anecoică, uneori fiind vizibil un buton anecogen. Vezicula este mai întâi sferică și apoi devine alungită și de formă neregulată în jurul zilei 26-29 (fig.12.2)

În ziua 30-35, amniosul este vizibil în jurul embrionului propriu-zis (fig 12.3 - 12.6). În ziua 42-45 la embrion se pot diferenția mugurii capului, trunchiului și ai membrelor care devin mai clar vizibili în ziua 45 (fig 12.7 și fig. 12.8).

În ziua 50, componentele placentare pot fi vizualizate clar (fig 12. 9). În ziua 55, coastele osoase ale embrionului sunt vizibile ca dungi ecogene albe, în timp ce în ziua 60 - 65 embrionul propriu-zis este vizibil în mod distinct capul cu zona optică, membrele anterioare și membrele posterioare (fig. 12.10 – fig. 12.12).

După vârsta de 70 de zile de gestație embrionul se dezvoltă într-un ritm mai accelerat, depășind 10 cm în lungime și pot fi identificate organele interne (ficatul, cord) și scheletul fetal (fig. 12.13 și fig. 12.14).

În timpul ultrasonografiei, identificarea timpurie a embrionului este dificilă din cauza poziției sale, acesta fiind foarte aproape sau în contact cu peretele uterin. La bivol, detectarea bătăilor inimii embrionare este, de asemenea, un pas important în diagnosticul ultrasunografic cu dopler al gestației, deoarece ne permite să evaluăm viabilitatea embrionului (Purohit, 2013).

Datele obținute de noi sunt validate practic prin cele publicate de diverși autori, deoarece sunt asemănătoare.

Principalul avantaj al scanării cu ultrasunete pentru depistarea precoce a gestației este faptul că poate oferi un diagnostic precis mai devreme decât palparea rectală.

Deși precizia ultrasonografiei pentru diagnosticul gestației la bivoli este mare în ziua 30, trebuie să se ia în considerare reexaminarea bivolitelor care evidențiază semne pozitive ale gestației după ziua 60 datorită posibilităților de resorbție embrionară. După literatura de specialitate mortalitatea embrionară apare în intervalul 25 - 60 zile de gestație (Campanile G, 2005) ceea ce poate duce la erori în diagnostic.

Diagnosticul de gestație la bivolițe se face prin metode și tehnici asemănătoare cu cele aplicate la bovine, acestea au ca principiu utilizarea

combinată s-au separată a examenului clinic ginecologic transrectal și cel ultrasonografic.

Examenul clinic transrectal la bivolițe este mai dificil de realizat, comparativ cu bovinele, din cauze morfologice și funcționale. Ca impedimente morfologice se remarcă: postura și talia mai mică la bivolițe, poziția sacrumului teșită, coarnele uterine sunt mai recurbate, iar ligamentul intercornal mai dezvoltat. Ca aspecte fiziologice se enumeră tonicitatea ridicată a sfincterului rectal și contractilității ampulei rectale, tapetarea cu grăsime abundentă a seroaselor pelvine, hiperkinezia și hipertonicitatea uterină, dimensiunea ovarelor și a formațiunilor fiziologice de pe suprafața lor.

Diagnosticul de gestație transrectal la bivolițe trebuie realizat de personalul cu cunoștințe de reproducție morfo-fiziologică la bubaline.

Comparativ cu diagnosticul de gestație transrectală la vacă, se constată o oarecare decalare în percepția reperelor specifice perioadei de gestație. Decalarea se referă la o întârziere în dezvoltare, s-au percepție și identificare. (tabel 12.2)

Astfel, ca tehnică de lucru după un masaj de vidare a rectului și reperarea segmentelor genitale uterul la bivolițe (BIR) devine rapid hiperkinetic și hipertonic ducând la formarea unei mase omogene și torsionată cu orientare ventral-pelvină astfel coarnele uterine sunt greu de individualizat și dacă este gestația incipientă în jurul vârstei morfologice de 30 - 45 zile, apar erori în diagnosticare.

Datorită tonicității corpului uterin și a peretelui uterin mai gros, asimetria uterina între cele două coarne apare sesizabilă mai tarziu ca la vacă, în intervalul 60-70 zile.

Corpul luteal gestativ (CLG) se caracterizează printr-un volum mai mic și cu o coroană foarte puțin evidentă la suprafața ovarului (fig. 12.1).

Senzatia de fluctuență și prezența „blocului de gheață în apă,, se percepe mai bine după vârsta de 70 zile, când lichidele alantocorionului destind și subțiază peretele corpului uterin.

Pentru acuratețea diagnosticului de gestație la bivolițe prin examen transrectal s-a organizat un studiu pe un număr de 143 de bivolițe (BIR) clasificate ulterior gestante. Animalele au fost examinate prin manopere ginecologice în trei intervale de timp diferite, după fiecare examinare diagnosticul cert a fost stabilit prin ecografie (tabel 12.1).

Lotul 1 alcătuit din 56 de bivolițe aflate în intervalul de 40-50 zile de la estru. Lotul 2 format din 48 de bivolițe între 50-60 zile de la estru și Lotul 3 format din 51 de bivolițe cu perioada de gestație probabilă între 60-70 zile.

La lotul 1 de bivolițe gestante în intervalul 40 - 50 zile de la estru s-au identificat foarte puține date probabile de gestație, cum ar fi alunecarea alantocorionului și palparea sacului amniotic (ca un balon de lichid).

Tabel 12.1

Diagnosticul de gestație pe categorii de vârstă prin ETR la bivolițe

Table 12.1

Diagnosis of gestation, after age by transrectal examination in buffaloes

Număr		Procent	Interval de la I.A / montă / estru	Acuratețe diagnostic număr / procent	Observații
145/145		100 %			
Lot 1	56/145	38,62	40 – 50 zile	18/56 32,14%	2 avorturi după 48 ore de la ETR 54 fătări
Lot 2	48/145	33,10	50 – 60 zile	34/48 70,83 %	48 fătări
Lot 3	51/145	35,17	60 – 70 zile	50/51 99%	51 fătări

Remarcăm că, coarnele uterine sunt încă simetrice, dar se poate identifica o senzație de gonflare a bazei coarnelor uterine și a corpului uterin. Pe întreaga lungime a acestor segmente apar boselări, dând astfel uterului un aspect undulat. Pe unul din ovare se poate palpa un CLG dar redus ca marime și cu coroana puțin evidentă. Nu au fost observate subțieri ale peretelui uterin prea evidente în acest interval.

Pentru acuratetea rezultatelor au fost luate în calcul doar bivolițele diagnosticate gestante, ultrasonografic după efectuarea examenului transrectal. Din 56 de bivolițe examinate și presupuse gestante au fost gestante prin ETR un număr de 18 (32%). Acuratetea diagnosticului ETR în intervalul 40-50 de zile a fost de 32,14%.

De remarcat este faptul că după examinarea clinică la 24-48 de ore doua bivolite au avortat. Consideram că metoda clinică de palpare a alantocorionului și a sacului amniotic pentru diagnosticul de gestație la această vârstă la bivolițe implică un anumit grad de risc din cauza hiperactivității contractile uterine și legaturile cotiledo-carunculare incipiente.

La lotul nr.2 de bivolite presupuse gestante în intervalul 50-60 zile de la estru, examenul transrectal a identificat elemente de gestație mai pronunțate, în sensul că peretele uterin începe să se subțieze se simte alantocorionul mult mai evident cu decelarea fluidelor embrionare. Referitor la gradul de simetrie între coarnele uterine la doua luni de gestație acesta este încă greu de sesizat, aspectul uterului este ca și gonflat undulat și boselat, mai evident până la curbura uterină.

Acuratețea diagnosticului de gestație în perioada 50-60 zile de la estru a fost de 70,83% (34/48).

La lotul 3 bivolițe presupuse gestante între 60-70 zile, diagnosticul clinic prin examen transrectal a fost cel mai facil de stabilit deoarece elementele de gestație au fost decelate ușor. La această perioadă asimetria coarnelor uterine

devine foarte evidentă, diametrul cornului uterin crește cu 2-3 cm dublându-și mărimea într-un interval scurt.

Senzația de fluctuență este evidentă și se decelează cu ușurință și fetusul (senzația de bloc de gheață în apă). Corpul luteal gestativ este palpabil, de asemenea și alunecarea alantocorionului este foarte evidentă. Acuratețea diagnosticului clinic transrectal în perioada 60-70 de zile de la estru la bivoul indigen românesc (BIR) este de 98,04% (50/51).

Diagnosticul de gestație prin examen transrectal (ETR) se pune greu și tardiv în condițiile intensificării producției în fermele de profil. Dar au fost evidențiate cateva elemente de diferențiere care se pot lua în calcul. Examenul ecografic neinvaziv ramane cea mai bună metodă de diagnostic al gestației, pentru intensificarea reproducției și productivității în fermele de bubaline.

În tabelul 12.2. sunt prezentate gradual elementele care stau la baza diagnosticului de gestație și particularitățile descoperite la Bivoul Indigen Românesc.

Palparea transrectală a fost utilizată pentru diagnosticarea gestației la bovine de la începutul anilor 90 și a fost procedura obișnuită de diagnostic pe teren. Datorită multor similitudini cu bovinele, aceeași metodă a fost probabil utilizată și la bivolițe. În timpul examinării rectale, ovarul și uterul sunt palpate prin peretele rectal.

Prezența corpului luteal (CL) nu indică neapărat gestația, iar detectarea acestuia pe ovarul bubalin este dificilă, deoarece este în cea mai mare parte încorporată mai adânc în stroma ovariană iar coroana CL se proiectează mai puțin pe suprafața ovariană.

Rezultatele pozitive ale gestației includ identificarea prin palpare a: asimetriei uterine, veziculei amniotice, alunecării alantocorionului, identificarea placentoamelor, palparea fătului și creșterea în dinamică a uterului în timpul diferitelor perioade ale gestației.

Cantitatea de lichide fetale în zilele 31 - 40 este mai mică la bivolițe comparative cu bovinele. Acesta poate fi motivul diagnosticului de gestație mai dificil prin palparea transrectală.

După autori cu expertiză în domeniu, palparea transrectală ca metodă de diagnostic precoce a gestației a fost considerată corectă la bivoli după ziua 46 după IA/montă.

Acumularea de lichide fetale este scăzută până în ziua a 40-a de gestație, dar ulterior există o creștere semnificativă a volumului de lichide fetale și a dimensiunii fetale, cu o creștere consecventă a dimensiunii uterului. Creșterea secvențială a dimensiunii uterului este înainte și în sus, uterul mărit deplasându-se spre cavitatea abdominală. Până în a șasea lună de gestație, uterul este localizat complet în cavitatea abdominală și numai placentoamele, distensia uterină și fremitul arterei pot fi identificate la 5 - 7 luni de gestație.

Tebel 12.2

Particularitățile de gestație la bivoliță în dinamica vârstei, prin examen clinic transrectal

Table 12.2.

Peculiarities of gestation in buffalo-cow in the dynamics of age, by transrectal examination

Date privind diagnosticul gestației	30 zile	45 zile	60 zile	90 zile	4 luni	5 luni	6 luni	9 luni	10 luni
Subțierea peretelui uterin gestant		*/ $\pm$	*	*					
Palparea sacului amniotic		*/ $\pm$	*	*					
Alunecarea alantocorionului			*/ $\pm$	*	*				
Asimetria coarnelor uterine			*/ $\pm$	*	*				
Palparea CL pe partea cu cornul uterin gestant	*	*	*	*					
Senzația de fluctuență a cornului uterin gestant			*/ $\pm$	*	*	*			
Palparea caruncurilor				*/ $\pm$	*	*	*		
Pulsatilitatea AUM pe aceeași parte cu cornul uterin gestant					*	*	*	*	*
Pulsatilitatea AUM și pe partea opusă cornului gestant						*	*	*	*
Palparea fătului/zone anatomice din făt				*	*			*	*



Fig 12.1 Ovar de bivoliță cu corp luteal gestativ (CLG)

Fig. 12.1 Buffalo ovary with gestational luteal body



Fig 12.2 Gestație bivoliță 29 zile, sondă 7,5 MHz. Embrion excentric și lichid embrionar acumulat în lumenul uterin

Fig. 12.2 Buffalo gestation 29 days, 7.5 MHz probe. Eccentric embryo and embryonic fluid accumulated in the uterine lumen



Fig 12.3 Uter bivolită, 31 zile de gestație, sondă 6 MHz. Lichid amniotic și embrion hiperecogen

Fig. 12.3 Buffalo uterus, 31 days gestation, 6 MHz probe. Amniotic fluid and hyperechoic embryo



Fig 12.5. Uter bivolită, 38 zile de gestație, sondă 6 MHz. Diametru uterin aproximativ 2 cm și embrion excentric

Fig. 12.5 Buffalo uterus, 38 days gestation, 6 MHz probe. Uterine diameter about 2 cm and eccentric embryo



Fig 12.7 Uter bivolită, 40 zile de gestație, sondă 6 MHz. Lumenul uterin destins de lichide, excentric se observă embrionul alungit cu hiperecogenitate la capete

Fig. 12.7 Buffalo uterus, 40 days gestation, 6 MHz probe.



Fig 12.4 Uter bivolită, 33 zile de gestație, sondă 8 MHz. Diametru uterin hipoeecogen, buton embrionar de 10 mm

Fig. 12.4 Buffalo uterus, 33 days gestation, 8 MHz probe. Hypoechoic uterine diameter, 10 mm embryonic bud



12.6. Uter bivolită, 39 zile de gestație, sondă 6 MHz. Se diferențiază butonii centurii pelvine și membrele

Fig. 12.6 Buffalo uterus, 39 days gestation, 6 MHz probe. The buttons of the pelvic girdle and the limbs are differentiated



Fig 12.8 Uter bivolită, 44 zile de gestație, sondă 6 MHz. Evidențierea membranei și lichidului amniotic

Fig. 12.8 Buffalo uterus, 44 days gestation, 6 MHz probe. Highlighting the membrane and amniotic fluid

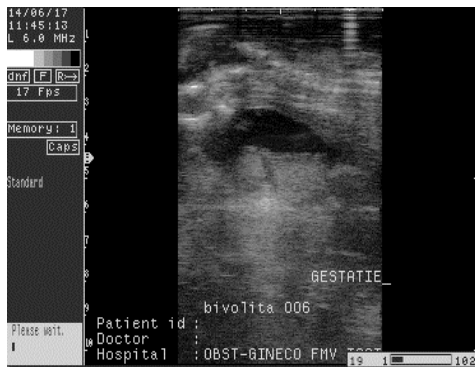


Fig 12.9 Uter bivolită, 55 zile de gestație, sondă 6 MHz. Este vizibilă coloana vertebrală în regiunea cervicală și splanhocraniu cu partea mandibulară și orbital

Fig. 12.9 Buffalo uterus, 55 days gestation, 6 MHz probe.



Fig 12.10 Uter bivolită, 62 zile de gestație, sondă 6 MHz. Vertebrele cocigiene și membrul stâng posterior

Fig. 12.10 Buffalo uterus, 62 days gestation, 6 MHz probe. Coccygeal vertebrae and left hind limb



Fig 12.11 Uter bivolită, 60 zile de gestație, sondă 8 MHz. Zona cefalică cu maxilla mandibula și orbite foarte vizibile

Fig 12.11 Buffalo uterus, 60 days gestation, 8 MHz probe.



Fig 12.12 Uter bivolită, 67 zile de gestație, sondă 6 MHz. Diametru toracic peste 2,5 cm

Fig 12. 12 Buffalo uterus, 67 days gestation, 6 MHz probe



Fig 12.13 Gestație 70 zile, sondă 6 MHz. Diametrul sacului embrionar de 4,17 cm, schelet complete format

Fig 12. 13Gestation at 70 days, 6 MHz probe.

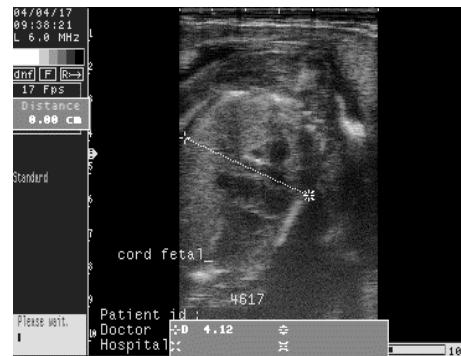


Fig 12.14 Gestație bivolită. Sondă 6 MHz Cord fetal în diametru de 4,12 cm

Fig 12.14 Buffalo gestation. 6 MHz probe, Fetal cord with a diameter of 4.12 cm

12.3 Concluzii parțiale

1. Acuratețea diagnosticului de gestație la bivoul 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%.
2. 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.
3. În ziua 30-35, amniosul este vizibil în jurul embrionului propriu-zis. În ziua 42-45 la embrion se pot diferenția mugurii capului, trunchiului și ai membrilor care devin mai clar vizibili în ziua 45.
4. Precizia ultrasonografiei pentru diagnosticul gestației la bivolițe este mare la 30 -35 de zile, dar trebuie să se ia în considerare reexaminarea bivolițelor care evidențiază semne pozitive ale gestației după ziua 60 datorită posibilităților de moarte și resorbție embrionară timpurie.
5. Rezultatele pozitive ale gestației includ identificarea prin palpate a: asimetriei uterine, veziculei amniotice, alunecării alantocorionului, identificarea placentelor, palparea fătului și creșterea în dinamică a uterului în timpul diferitelor perioade ale gestației.
6. Cantitatea de lichide fetale în zilele 31 - 40 este mai mică la bivolițe comparative cu bovinele. Acesta poate fi motivul diagnosticului de gestație mai dificil prin palpate transrectală

13. CONCLUZII FINALE ȘI PERSPECTIVE DE CERCETARE

1. La ferma Terra di Bufala în perioada anilor 2016 – 2017 s-a observat clar preocuparea crescătorului de a obține un efectiv matcă de bivolițe tinere, cu potențial pentru reproducție și pentru creșterea producție de lapte. În anul 2017 efectivul de bivolițe tinere a crescut cu 40% comparativ cu anul anterior.

2. În cadrul SCDCB Șercaia sistemul de programare a bivolițelor și vițelilor la montă și fătare este sezonier, fătările sunt concentrate în proporție de 70 – 75% din efectivul femel apt de reproducție în perioada martie - iunie, pentru a se valorifica furajele verzi din cursul verii în vederea creșterii producției de lapte.

3. Ferma Bradano River din Italia, specializată pentru creșterea bivolițelor pentru producția de lapte, în 2017 a avut 76,5% dintre bivolițele adulte în lactație, media producției de lapte pe bivoliță fiind. de 10,2 L / zi.

4. La bivolițele crescute în ferma Terra di Bufala, analiza datelor înregistrate în anul 2017 privind sezonalitatea reproducției a evidențiat că activitatea ovariană mai intensă se înregistrează în sezonul cald. În lunile de iarnă (anul 2017) anestrul s-a instalat la aproximativ 90% din efectivul de bivolițe, estrusul spontan a fost diagnosticat la 50,8% dintre bivolițe primăvara, 30,5% vara, 13,6% toamna și 5,1% iarna.

5. Principalii indici de reproducție calculați pentru cele două ferme din România au fost: Calving Intervalul - 547 zile pentru ferma de la Războieni și 443,2 zile pentru ferma de la Șercaia respectiv Servce Preiodul - 140 zile, pentru ferma de la Războieni și 140,2 zile, pentru ferma de la Șercaia.

6. Referitor la afecțiunile aparatului genital, la ferma de la Războieni s-au înregistrat în perioada 2016 – 2017, 33% afecțiuni ale ovarelor (hipotrofii ovariene, chisti foliculari și chisti luteinici) în timp ce la ferma de la Șercaia, în perioada anilor 2017 – 2018, procentul pentru afecțiunile ovariene a fost de 43%.

7. Frecvența retențiile placentare în perioadele studiate la cele două ferme a fost crescută în lunile reci ale anului (sezonele toamnă – iarnă și începutul primaverii), în perioada iunie – septembrie neînregistrându-se niciun caz.

8. Ținând cont de sezonalitatea bivolițelor 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.

9. Hipotrofia de gradul III a fost considerată atrofie ovariană și nu a fost supusă tratamentului deoarece răspunsul ovarian este slab sau inexistent, iar tratamentul costisitor.

10. În tratamentul aplicat bivolițelor diagnosticate cu corp luteal persistent în Ferma II în anii 2017 - 2018 la 20% din cazuri, estru a aparut până la 3 zile de la administrarea prostaglandinei, iar la 30% din cazuri estru a aparut după 15 zile de la prima administrare.

11. Din cazurile tratate cu chiști foliculari, 40% din bivolițele au intrat în călduri la peste 21 de zile de la administrare (interval de 21 – 25 zile).

12. Din cazurile tratate cu chiști luteinici 20% din bivolițele au intră în călduri la 17 zile de la sfârșitul tratamentului, iar în restul cazurilor revenirea ciclicității a fost mai tardivă (după 60 de zile).

13. La ferma Terra di Bufala, Războieni, într-un studiu de sincronizare a estrului la bivolițe, s-a constatat că după prima administrare de PGF α , au fost diagnosticate în faza estrală 25% bivolițe. La 75% dintre bivolițe li s-a administrat și a doua doză de PGF, care a indus estru în ziua 13 - 14 la un procent de 33,3%.

14. Luând în calcul inducerea estrului prin administrarea de factor luteolitic (PGF α) la bivolițe în luna februarie (în extrasezonul de reproducție), s-a constatat o valoare de 58,3% estru indus (25% în urma unei singure administrări respectiv 33,3% după cea de-a doua administrare).

15. Inducerea estrului la vițele de bivoliță în extrasezon (vara) a avut o valoare de 88,2 %. La toate bivolițele aflate în estru clinic a fost identificat ecografic pe ovar unul sau doi foliculi dominanți. Rata de gestație în sezonul de vară a atins valori de 76,5% în urma montei dirijate.

16. Protocolul OvSynch multiplu, utilizat în Ferma Bradano River, Italia, organizează activitatea de reproducție în fermă, astfel încât să existe o corelație echilibrată între numărul de animale, resursa umană și productivitate.

17. Aplicarea sincronizării estrului prin GnRH-PG-GnRH, duce la gestionarea exactă a valurilor foliculare și a managementului corpului luteal. Inducerea unui folicul dominant pe ovar și stimularea ovulației face ca IA să se facă la timp fix, fiind posibilă programarea ei în funcție de necesități și timp disponibil.

18. Fecunditatea medie în ferma Bradano River în perioada 2015 - 2017 a fost de 73,8%, fiind diagnosticate gestante un număr de 456 de bivolițe din 618 însămânțate artificial.

19. Rata concepției totale a protocolului de OvSynch cu FTIA unicornuală cu spermă sexată, în ferma Terra di Bufala, a fost de 45%.

20. La parturiție au fost obținuți 9 fete vii și viabili din care raportul dintre sexe a fost de 88,8% în favoarea celui femele. Afirmăm ca obiectivul de creștere a potențialului genetic la bivolițe prin folosire biotehnică de inducere a estrului și a ovulației și însămânțarea artificială programată cu material seminal sexat poate deveni realizabil.

21. 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 blastocist expandat, în timp ce același stadiu este atins la bubaline în ziua a 6-a de dezvoltare.

22. În urma tratamentului de poliovulație, PridDelta 11 zile, PG - PMSG (2500 U.I.) administrat la bivolițe, a avut o reactivitate bună obținându-se în ziua flusingului patru embrioni și o rată a fătării de 25 %.

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

24. Metoda de recoltare prin puncția și aspirația foliculilor de bivoliță are un procent de reușită de 45,45%, raportul folicul / ovocită identificată a fost de 11/5.

25. Din totalul de 56 de ovocite 42,85% au reprezentat ovocite cultivabile, acestea au un aspect uniform cu structură asemănătoare și grad de dezvoltare similar, reprezentând o populație de ovocite care pot continua cu succes etapele următoare ale fertilizării *in vitro*.

26. La bubaline, tonicitatea uterului fiind crescută, peretele uterin pare mai dezvoltat, vasele sangvine au un aspect ondulat. Toate aspectele descrise, asociate și cu perioada de gestație mai mare decât la bovine, fac ca evidențierea gestației la bubaline să fie mai întârziată.

27. Studiul morfologic asupra ovarelor de bivoliță de la ferma Terra di Bufala a arătat că forma ovarelor a fost ovală alungită sau ovoid aplatizată. Ovarele de dimensiuni mari cu foliculi prezenți pe suprafață au o formă sferică, globuloasă. Suprafața ovarelor cu foliculi mici a fost netedă iar unele ovare din fază luteală au avut consistență dură.

28. Acuratețea diagnosticului de gestație la bivolul indigen românesc (BIR) prin palparea 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%.

29. Precizia ultrasonografiei pentru diagnosticul gestației la bivolițe este mare la 30 -35 de zile, dar trebuie să se ia în considerare reexaminarea bivolițelor care evidențiază semne pozitive ale gestației după ziua 60 datorită posibilităților de moarte și resorbție embrionară timpurie.

14. FINAL CONCLUSIONS AND RESEARCH PERSPECTIVES

1. At the Terra di Bufala farm between 2016 and 2017, it was clear that the breeder's concern was to obtain a queen of young buffaloes, with potential for reproduction and to increase milk production. In 2017, the number of young buffaloes increased by 40% compared to the previous year.

2. Within SCDCB Șercaia, the programming system for buffaloes and calves during breeding and calving is seasonal, the calves are concentrated in a proportion of 70 - 75% of the female herd capable of reproduction during March - June, in order to capitalize on the green fodder during in order to increase milk production.

3. The Bradano River farm in Italy, specialized in raising buffaloes for milk production, in 2017 had 76.5% of adult buffaloes in lactation, the average milk production per buffalo being. of 10.2 L / day

4. In buffaloes raised on the Terra di Bufala farm, the analysis of data recorded in 2017 on the seasonality of reproduction showed that more intense ovarian activity is recorded during in the warm season. In the winter months (2017) anestrus settled in about 90% of the buffalo population, spontaneous estrus was diagnosed in 50.8% of buffaloes in spring, 30.5% in summer, 13.6% in autumn and 5.1% in winter.

5. The main reproduction indices calculated for the two farms in Romania were: Calving Interval - 547 days for the farm from Razboieni and 443.2 days for the farm from Șercaia and Service Preiodul - 140 days for the farm from Războieni and 140 , 2 days, for the farm from Șercaia.

6. Regarding the disease of the genital tract, at the farm from Răboieni were registered between 2016 and 2017, 33% of ovarian diseases (ovarian hypotrophy, follicular cysts and lutein cysts) while at the farm from Șercaia, during the years 2017 - 2018, the percentage for ovarian diseases was 43%.

7. The frequency of placental retention in the periods studied at the two farms was increased in the cold months of the year (autumn - winter and early spring seasons), during June - September no case was registered.

8. Given the seasonality of buffaloes and that the ovaries are small but highly reactive, grade I and II hypotrophs can be treated by specific hormone therapy associated with a balanced diet and neuroreflex therapy.

9. Grade III hypotrophy was considered ovarian atrophy and was not treated because the ovarian response is weak or non-existent and the treatment is expensive.

10. In the treatment applied to buffaloes diagnosed with persistent luteal body in Farm II in the years 2017 - 2018, in 20% of cases estrus appeared up to 3 days after prostaglandin administration, and in 30% of cases estrus appeared after 15 days of at the first administration.

11. Of the cases treated with follicular cysts, 40% of the buffaloes entered the heat more than 21 days after administration (interval of 21-25 days).

12. Of the cases treated with lutein cysts, 20% of the buffaloes with ovarian cysts became hot 17 days after the end of the treatment, and in the rest of the cases the return of cyclicity was later (after 60 days).

13. At the Terra di Bufala farm, Războieni, in a study of estrus synchronization in buffaloes, it was found that after the first administration of PGF α , 25% buffaloes were diagnosed in the estrous phase. 75% of the buffaloes were also given the second dose of PGF, which induced estrus on day 13-14 at 33.3% of the buffaloes.

14. Taking into account the induction of estrus by the administration of luteolytic factor (PGF α) to buffaloes in February (in the off-season), a value of 58.3% of induced estrus was found (25% following a single administration, respectively 33.3 % after the second administration).

15. The induction of estrus in buffalo calves in the off-season (summer) had a value of 88.2%. In all the buffaloes in clinical estrus, one of the two dominant follicles was identified by ultrasound on the ovary. The gestation rate in the summer season reached values of 76.5% following the directed breeding.

16. The Multiple OvSynch Protocol, used on Bradano River Farm, Italy, organizes breeding activity on the farm so that there is a balanced correlation between the number of animals, human resources and productivity.

17. The application of estrus synchronization through GnRH-PG-GnRH, leads to the exact management of follicular waves and the management of the luteal body. The induction of a dominant follicle on the ovary and the stimulation of ovulation makes AI to be done at a fixed time, being possible to schedule it according to needs and available time.

18. The average fertility in the Bradano River farm between 2015 and 2017 was 73.8%, being diagnosed pregnant with a number of 456 buffaloes from 618 AI.

19. The overall conception rate of the Ovsynch protocol with unicornual FTIA and sexed semen on the Terra di Bufala farm was 45%.

20. At birth, 9 live and viable fetuses were obtained, of which the sex ratio was 88.8% in favor of the female. We state that the goal of increasing the genetic potential of buffaloes by using artificial insemination with sexed material can become achievable.

21. The development of buffalo embryos evolves about 24 hours faster than bovine embryos. Therefore, the bovine embryo on the 7th day after fertilization is in the stage of expanded blastocyst development, while the same stage is reached in buffaloes on the 6th day of development.

22. Following the 11-day PRID DELTA poliovulation treatment, PG-PMSG 2500 U.I. administered to a buffalo, it had a good reactivity obtaining on the day of flushing four embryos and a birth rate of 25%.

23. According to the Romanian Embryo Transfer Association (ARET 2019 and AETE Report), the calving of the first buffalo calf obtained by ET was reported at the Romanian Indigenous Buffalo.

24. The method of harvesting by puncture and aspiration of buffalo follicles has a success rate of 45.45%, the identified follicle / oocyte ratio was 11/5.

25. Out of a total of 56 oocytes, 42.85% represented cultivable oocytes, they have a uniform appearance with a similar structure and similar degree of development, representing a population of oocytes that can successfully continue the next stages of in vitro fertilization.

26. In buffalo, the tonicity of the uterus is increased, the uterine wall seems more developed, the blood vessels have a wavy appearance. All the described aspects, associated with the longer gestation period than in cattle, make the highlighting of gestation in buffaloes more delayed.

27. The morphological study of buffalo ovaries from the Terra di Bufala farm showed that the shape of the ovaries was oval elongated or ovoid flattened. The large ovaries with follicles present on the surface had a spherical, globular shape. The surface of the ovaries with small and prominent follicles was smooth and some ovaries from the luteal phase had a hard consistency.

28. The accuracy of the gestation diagnosis in the Romanian indigenous buffalo (BIR) by transrectal palpation in the period 50-60 days after estrus was 70.83%, and in the period 60-70 days it is 98.04%.

29. The accuracy of ultrasonography for the diagnosis of gestation in buffaloes is high at 30-35 days, but the re-examination of buffaloes that show positive signs of gestation after day 60 due to the possibility of death and early embryonic resorption should be considered.

BIBLIOGRAFIE

1. Abdullah F, Tiwari RP. 2007; *Effect of PGF2alpha and antibiotics in ameliorating postpartum metritis in Murrah buffaloes*. Indian J Anim Reprod 28:80-82.
2. Aboul-Fadle WS, Fahmy MF, El-Shafey SM. 1974, *Histological studies on the follicles with special reference to their atresia in Egyptian buffaloes*. Zentbl Vet Med; 21:660-670.
3. Agarwal SK, Singh SK, Rajkumar R. 2005; *Reproductive disorders and their management in cattle and buffalo: A review*. Indian J Anim Sci 75:858-873.
4. Agarwal SK, Tomer OS. 1998, *Artificial Insemination*. In Reproductive Technologies in Buffalo. Indian Vet Res Institute.
5. Agarwal SK. MVSc Thesis, 1978. IVRI Izatnagar, India.
6. Agarwal SK. Shankar U and Ansari MR. 2004; *Laboratory manual on animal gynecology* published by Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, India.
7. Agrawal KP, Raizada BC, Pandey MD. 1978. *Postparturient changes in the uterus of buffalo cows*. Indian J Anim Sci; 47:492–503.
8. Ahmad A, Khan MZ. 1993, *Lesions in the female reproductive organs of buffalo*. Indian Vet J70:258-260.
9. Ahmad N, Noakes, DE. 2009. *Reproduction in the buffalo*. In: Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, eds. Veterinary Reproduction and Obstetrics. London: Saunders Elsevier; 824–835
10. Ahmad S, Kumar H, Singh G, Patra MK., 2011. *The administration of GnRH plus PGF2 alpha synchronizes the estrus in anestrus crossbred cows exposed to bull urine*. Indian Journal of Veterinary Research, 20: 42-45.
11. Al-Dahash SYA and David JSE. 1977; *Histological examination of ovaries and uteri from cows with cystic ovaries*. Vet Rec 101:342-347
12. Ali A, Abdel Razek, A Derar R et al. 2009; *Forms of reproductive disorders in cattle and buffaloes in Middle Egypt*. Reprod Domest Anim 44:580-586.
13. Ali, A., Fahmy, S. 2007. *Ovarian dynamics and milk progesterone concentrations in cycling and non-cycling buffalo-cows (Bubalus bubalis) during Ovsynch program*. Theriogenology, 68, pp. 23–28
14. Ambrose JD, Kastelic JP, Rajamahendran R, et al. 2005, *Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates*. Theriogenology; 64(7):1457-1474. – PubMed.
15. Anwar M, Ullah N. 1998, *Early development and location of embryos in the reproductive tract of Nili Ravi buffalo (Bubalus bubalis): A retrospective analysis*. Theriogenology; 49:1193-1198.
16. Ardelean V., 2002, *Fiziologia reproducerii animalelor*. Ed. Mitrov, Timișoara.
17. Arile VL, Moioli B, Terzano GM, et al. 1996, *Ovulation prediction to improve artificial insemination in buffalo cows*. Bulgarian J Agric Sci; 2:103-107.
18. Awasthi M K, Kavani FS, Siddiquee GM, et al. 2008, *Characterization of follicular dynamics and luteal function during short estrous cycle in suckled postpartum Mehsana buffaloes*. Indian J Anim Reprod; 8:50-54.
19. Awasthi MK, Kavani F S, Siddiquee GM, et al. 2007, *Characterization of postpartum follicular development through ultrasound scanning and luteal function in suckled Mehsana buffaloes*. Indian J Anim Sci; 77:10-13.
20. Awasthi MK. 2013, *Follicular dynamics in the female buffalo*. In: Purohit GN Eds Bubaline Theriogenology.
21. Azawi OI, Ali AJ. 2011, *A study on the prevalence of some pathological abnormalities of the uterus diagnosed at postmortem of buffaloes in Mosul*. Buffalo Bull; 30:67-71.
22. Azawi OI, Omran SN, Hadad JJ. 2007. *Clinical, bacteriological and histo-pathological study of toxic puerperal metritis*. J Dairy Sci; 90:4654-4660.
23. Azawi OI, Omran SN, Hadad JJ. 2008. *A study of endometritis causing repeat breeding of cyclic Iraqi buffalo cows*. Reprod Domest Anim; 43:735-743
24. Banks WJ. 1992, *Sistema reprodutor feminina*. In: Banks, WJ. *Histologia veterinária aplicada*. 6.ed. São Paulo: Manole, 565-588.
25. Barile VL, Pacelli C, De Santis G, et al. 2004, *Fixed time artificial insemination in buffalo using two different hormonal schedules for estrus synchronization*. Preliminary results. In:

Proceedings of the 7th World Buffalo Congress, Manila, Philippine, 20-23 October; Vol II; 585-587.

26. Barile VL, Pacelli C, De Santis G, et al. 2004. *Fixed time artificial insemination in buffalo using two different hormonal schedules for estrus synchronization. Preliminary results.* In: Proceedings of the 7th World Buffalo Congress, Manila, Philippine, 20-23 October; Vol II; 585-587

27. Barile VL. 2005, *Review article: improving reproductive efficiency infemale buffaloes.* Livest Prod Sci; 92:183–194.

28. Barile VL. 2012, *Technologies related with the artificial insemination in buffalo.* J Buffalo Sci; 1:139-146.

29. Baruselli PS, Carvalho NAT, Henriquez CEP, et al. 2002, *Synchronization of ovulation for timed artificial insemination during the off breeding season in the buffalo.* In: Proceedings of the 1st Buffalo Symposium of Americas, Belém, Brazil; 418-420.

30. Baruselli PS, Carvalho NAT, Henriquez CEP, et al. 2003, *Use of progesterone associated to "Ovsynch" protocol for timed artificial insemination in buffalo (Bubalus bubalis).* In: Proceedings of the 2° Congresso Nazionale sull'Allevamento del Bufalo, Monterotondo, Italy, 28-30 Agosto; 265-268.

31. Baruselli PS, Madureira EH, Barnarbe VH, Barnabe RC, Berber RCA. 2003, *Evaluation of synchronization of ovulation for fixed timed insemination in buffalo (Bubalus bubalis),* Braz J Vet Res Anim Sci.; 40:431-442.

32. Baruselli PS, Mucciolo R, Visintin GA, et al. 1997, *Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (Bubalus bubalis).* Theriogenology; 47:1531–1547.

33. Baruselli PS, Viana WG, Mucciolo RG, et al. 1994. *Ovarian activity and sexual behaviour during postpartum period in buffaloes.* In: Proceedings of IVth World Buffalo Congress; 440-442.

34. Baruselli PS. 2001, *Control of follicular development applied to reproduction biotechnologies in buffalo.* In: Proceedings of the 1° Congresso Nazionale sull'Allevamento del Bufalo, Eboli, Italy, 3-5 Ottobre, 128-146.

35. Batra SK, Pandey RS. 1983, *Luteinizing hormone in blood plasma of post-partum buffaloes (Bubalus bubalis).* Theriogenology; 19:193-200.

36. Benesch F, Wright JG. 2001, *Parturition.* In: Benesch F, Wright JG, eds. Veterinary Obstetrics. First Indian Reprint. Lucknow: Green world Publishers: 65–74.

37. Bhardwaj R.L. and Roy, K. S. (2006). Indian J. Anim. Sci.,76: 506-509.

38. Bhattacharya P, Luktuke SN, Rao ASP, et al 1954; Incidence of infertility under five various casual groups in buffalo cows in India. Current Sci 23:335-340.

39. Bîrtoiu A., Seiciu F. 2004, *Tratat de reproducție la animale.* Ed. All București.

40. Bogdan A.T. coordonator (2015), *Soluții bioeconomice pentru criza zootehniei, prin asigurarea independenței și suveranității agroalimentare durabile a româniei euroatlantice,* Ediția a III- a, Ed. Academiei Române, București.

41. Bogdan LM, Groza I. 2009. *Obstetrică Veterinară,* Editura AcademicPress, Cluj-Napoca, ISBN 973-744-164-5.

42. Bogdan LM. 2000. *Biotehnici în reproducția animalelor domestice,* Editura AcademicPress, Cluj-Napoca.

43. Bogdan LM. 2001. *Reproducție, Obstetrică, Terapie și Însămânțări artificiale la animale,* Editura Academic Press, Cluj-Napoca.

44. Bogdan, A. T., Stoica, A., Sonea, A., Tapaloaga, P., Marin, M., Ipate, I., Strateanu, A. 2010. *Biotechnological innovation and husbandry diversity in the development animal production bioengineering using artificial insemination and embryo transfer.* Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science.

45. Borghese A., Barile VL, Campanile G, et al. 1993, *Induzione dell'estro in bufale acicliche. Nota I. Percentuale di ciclicità / Oestrus induction in acyclic water buffaloes. Note I. Cyclicity rate.* In: Atti 5° Meeting Nazionale, Studio della Efficienza Riproduttiva degli Animali di Interesse Zootecnico, Bergamo, Italy, 30 Aprile, 125-129.

46. Brar PS, Saigal, RP, Sharma RD et al., 2008, *Histology and histochemistry of broad ligaments in buffaloes.* Indian J Anim Sci, 78:464-467.

47. Brito LFC, Satrapa R, Marson EP, et al 2002; *Efficacy of PGF2α to synchronize estrus in water buffalo cows (Bubalus bubalis) is dependent upon plasma progesterone concentration,*

corpus luteum size and ovarian follicular status before treatment. Anim Reprod Sci 73(1-2):23-35.

48. Brito LFC, Satrapa R, Marson EP, et al. 2002, *Efficacy of PGF2 α to synchronize estrus in water buffalo cows (Bubalus bubalis) is dependent upon plasma progesterone concentration, corpus luteum size and ovarian follicular status before treatment. Anim Reprod Sci*; 73(1-2):23-35. - PubMed

49. Bud, I., 1983, Contribuții la caracterizarea morfoproductivă a bubalinelor din nord-vestul Transilvaniei, Teză de doctorat, Cluj-Napoca.

50. Campanile G, Baruselli PS, Neglia G, et al. 2010, *Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. Anim Reprod Sci*; 121:1-11.

51. Campanile G., Neglia G., Gasparini B., Galiero G., Prandi A., Di Palo R., D'Occhio M.J., Zicarelli L., (2005). *Embryonic mortality in buffaloes synchronized and mated by AI during the seasonal decline in reproductive function. Theriogenology* 63 (2005) 2334-2340.

52. Campo E, Alonso JC, Hincapie JJ, et al. 2002, *Seasonal influence on uterine involution and postpartum ovarian activity in river buffaloes. Bubalus Bubalis*; 3:59-63.

53. Carvalho FCA, Oba E, Mota AV, et al. 2007, *Structural and ultrastructural characterization of buffalo fetus (Bubalus bubalis) ovarian germinative cells. Italian J Anim Sci*; 6 (Suppl 2):688-690.

54. Carvalho NAT, Gimenes LU, Reis EL, et al. 2010a, *Biometry of genital system from buffalo (Murrah) and bovine (Nelore) females. Rev Vet*; 21:276-279.

55. Carvalho Nat, Soares JG, Reis EL, et al. 2013, *Use of different progestagens for ovulation synchronization and TAI in buffaloes during the non breeding season. Buffalo Bull*; 32 (Special Issue 2): 527-531

56. Carvalho NAT. 2006 *Avaliação anatomofuncional do sistema genital de fêmeas bubalinas (Bubalus bubalis), e suas implicações em múltipla ovulação e transferência de embriões*. 145 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

57. Cernescu H. 2004, *Ginecologie veterinară*, Ed, Helicon, Timișoara.

58. Chantaraprateep P, Lohachit C, Techakumphu M, et al. Early embryonic development in Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 1989

59. Chantaraprateep P, Prateep P, Lohachit C, et al. Pelvimetry in swamp buffalo and indigenous cattle cow. *J Thai Vet Med Assoc* 1984; 35:307-316.

60. Chauhan FS, Singh N, Singh M. 1977; *Involution of the uterus and cervix in buffaloes. Indian J Dairy Sci* 30:286-291.

61. Chohan KR, Chaudhary RA, Khan NU, et al. 1992, *Oestrus behavior and fertility in normal cycling and oestrus synchronized buffaloes. Indian J Dairy Sci*; 45:588-590.

62. Chohan KR, Iqbal J, Asghar., 1993, *Influence of season on fertility of oestrus synchronized buffaloes. Buffalo J*; 9:65-67.

63. Chohan KR. 1998, *Estrus synchronization with lower doses of PGF2 α and subsequent fertility in suboestrus buffalo. Theriogenology*; 50 (7):1101-1108. – PubMed.

64. Ciornei Șt.G., Drugociu D., Rosca P, Ghinet Liliana, 2017, *Protocol of polyovulation to donor buffaloes (Romanian Buffaloes) - vol. 60 -IV Medicină Veterinară*, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași 422-426.

65. Ciornei Șt.G., Drugociu D., Rosca P, Ghinet Liliana, 2018, *Polyovulatory response and in vivo embryo production at the omanian indigenous buffalo, out of breeding season in n-e of Romania* *Lucrări Științifice*, vol. 61 -IV, *Medicină Veterinară*, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași 286 - 291.

66. Ciornei Șt.G., Drugociu D., Roșca P., Runcianu L., Galan C., Dorobantu I., Paduraru V.D., Balu C. 2010, *Salpinx disorders as a factor of infertility in cows for milk production*, „*Lucrari stiintifice de Medicină Veterinară*, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași.

67. Constantin N., Sonea A., Birtoiu A, 2003, *Tratat de medicina veterinara*, vol 3, CapVI, Ed. Tehnica, vol 3, ISBN: 973-31-1580-0

68. Cooper MJ. 1974, *Control of estrous cycles of heifers with a synthetic prostaglandin analogue. Vet Rec*; 95:200-203.

69. Coroian Aurelia, 2009, *Creșterea bubalinelor pentru producția de lapte*, Ed. Bioflux, Cluj-Napoca.

70. Cotea C., 2004, *Biologie celulară, embriologie generală, histologie generală*. Ed. Tehnopress, Iași.

71. Coțofan GH.V., Paștea E., Nicolescu V., Chițescu Șt., Radu S., Miclea M., Cornilă N. Palicica R 1985, *Anatomia comparată a animalelor domestice*, vol. I și II. Editura Didactică și Pedagogică, București.
72. Crudeli GA, Konrad JL, Patiño EM. 2016, *Reproducción en búfalas*. 1st ed. Buenos Aires, Argentina: Moglia.
73. Crudeli GA, Maldonado Vargas P, De La Sota RL, et al. 2010, *Effect of using fixed-time artificial insemination protocols (Ovsynch vs. Progestogen) on pregnancy of Buffaloes (Bubalus bubalis)*. Rev Vet; 21(1):870-874.
74. Danell B. 1987, *Oestrous behaviour, ovarian morphology and cyclical variation in follicular system and endocrine pattern in water buffalo heifer*. 124 f. Tese (Doutorado) – Faculty of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
75. Das G.K., Kumar A., Dangi S.S. and Khan F.A. 2014. *Parturition and Puerperium in the Buffalo*, in: *Bubaline Theriogenology* by Purohit G.N.
76. Das GK, Khan FA. 2010. *Summer anoestrus in buffalo-A review*. Reprod Domest Anim; 45: e 483–e494.
77. De Araujo Berber RC, Madureira EH, Baruselli PS. 2002. *Comparison of two ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (Bubalus bubalis)*. Theriogenology; 57(5):1421-1430.
78. De Rensis F, Ronci G, Guarneri P, et al. 2005, *Conception rate after fixed time insemination following ovsynch protocol with and without progesterone supplementation in cyclic and non-cyclic Mediterranean Italian buffaloes (Bubalus bubalis)*. Theriogenology; 63(7):1824-1831, PubMed.
79. De Rensis, F, Lopez-Gatius, F. 2007. *Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (Bubalus bubalis): a review*. Theriogenology, 67, pp. 209–216.
80. Di Francesco DS. 2010, *Effect of season on reproductive performances in buffalo species (Bubalus bubalis)*. Ph.D. Thesis Universita Degli Studi di Napoli Federico Italy.
81. Dodamani MS, Mohteshamuddin K, Awati SD, et al. 2010; *Study on Calving Pattern in Buffaloes*. Vet World 3:188–190.
82. Doležel, R.S, J. Zajic. and V. Havlicek, 2002. *Oestrus synchronization by PGF2 α and GnRH in Intervals according to stage of follicular development at time of initial treatment in cows*. Acta. Vet. Brno., 71: 101–108.
83. Dorobanțu I., Galan C., Drugociu D., P. Roșca, Ciornei Șt.G., 2009, *Observatii asupra frecventei, formele clinice, simptomatologia, endometritelor cronice la vaci*, Revista Lucrări Științifice Vol 51(10), Seria Medicina Veterinară, Iași. p.313 – 315.
84. Driancourt MA. 2001, *Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction*. Theriogenology; 55(6):1211-1239.
85. Drugociu D, Drugociu Dana, 2015, *Patologie genitală și a glandei mamare la animale*, Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.
86. Drugociu D., 2001, *Reproducție, însămânțări artificiale și ginecologie veterinară*. Casa de editură Venus, Iași.
87. Drugociu D., 2005, *Bolile obstetricale ginecologice la animale*. Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.
88. Drugociu D., 2009, *Bolile obstetricale ginecologice la animale Editia a II - a*. Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.
89. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG., 1996, *Textbook of veterinary anatomy*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 856.
90. El-Fouly MA, Kotby EA, El-Sobhy HE. 1976; *Postpartum ovarian activity in suckled and milked buffaloes*. Theriogenology 5:69–81.
91. Elisei, L., 1995, *Cercetări privind însușirile fenotipice ale populației de bubaline din zona Făgărașului și posibilități de ameliorare*, Teză de doctorat, Cluj-Napoca.
92. El-Wishy AB. 2007, *The postpartum buffalo II. Acyclicity and anestrus*. Anim. Reprod. Sci; 97: 216–236.
93. Gergescu, Gh., 1988, *Laptele produs strategic, aliment complet și de neînlocuit*, Revista crescătorilor de Taurine, nr. 3.
94. Gimenes LU, Carvalho NAT, Sa Filho MF, et al. 2011, *Ultrasonographic and endocrine aspects of follicle deviation and acquisition of ovulatory capacity in buffalo (Bubalus bubalis) heifers*. Anim Reprod Sci, 123:175-179.

95. Groza I. - coordonator, Cenariu M., Simona Ciupe, Camelia Ivan, Morar I., Eموke Pall, Pop R., Şonea A., Voloşeniuc M. 2019. *Fiziologia şi patologia perioadei puerperale la animalele domestice*. Ed. 2019, Cluj-Napoca.
96. Groza I. Şt., 2006- *Ginecologie, andrologie şi Obstetrică Veterinară*, Ed. Academiei, Bucureşti.
97. Groza I.Şt., 2006, *Ginecologie, andrologie şi Obstetrică Veterinară*, Ed. Academiei, Bucureşti.
98. Groza I.Şt., Morar I. 2004, *Andrologie Veterinară*, Ed. Gryphon, Braşov.
99. Groza I.Şt., Muntean M. 2000, *Elemente de fiziologia reproducţiei la animale*. Ed. Academic Press, Cluj - Napoca.
100. Groza I.Şt., Tomai G., Cenariu M., Ciupe Simona, 2012, *Ultra sonography a modern tool for pregnancy diagnosis and identifaction of fetal structures in domestic buffloes*. Bul. USAMV, Cluj-Napoca
101. Gupta PSP, Nandi S, Ravindranatha BM, et al. 2001, *Isolation of preantral follicles from buffalo ovaries*. Vet Rec; 148:543-544.
102. Hadi MA, Sane CR. 1965, *Critical observations on certain anatomical features encountered during study of female Murrah buffalo pelvis*. Indian Vet J; 42:327-330.
103. Hafez E.S.E. 2002, *Anatomy of female reproduction in reproduction in animals*, 7th edition. Ed. Hafez E.S.E., Hafez b.
104. Hafez ESE, Hafez B., 2004, *Reprodução animal*. 7th ed. São Paulo: Manole, 513.
105. Hafez ESE. 2000, *Reproduction in farm Animals*. Ediția VII. Philadelphia.
106. Hanzen Ch., Gautam G., Nakao T. - 2009, *Prevalence of urovagina and its effect on reproductive performance in Holstein cows*. Theriogenology, 71, 1451-1461.
107. Hasler John F., 2014, *Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal Theriogenology, the growth of the industry in North America, and personal reminisces*. Theriogenology, vol 81, pp 152-169;
108. Hossein-Zadeh NG, Madad M, Shadparwar AA, et al. 2012, *An observational analysis of secondary sex ratio, still birth and birth weight in Iranian buffaloes (Bubalus bubalis)*. J Agric Sci Tech, 14:1477-1484.
109. Hufana-Duran D., Duran P.G., 2015, Chapter *Advanced Reproductive Technologies in Water Buffalo*, In: Bubaline Theriogenology, IVIS
110. Iannuzzi L, Di Meo GP, Peruccatti A, et al. 2005; *Freemartinism in river buffalo: clinical and cytogenetic observations*. Cytogenet Genome Res 108:355-358.
111. Illeva Y, Peeva T. 2007. *Longevity of buffalo cows and reasons for their culling*. Italian J Anim Sci; 6(Suppl): 378-380.
112. Jainudeen MR, Hafez ESE. 2000; *Cattle and buffalo*. In: Hafez B, Hafez ESE, eds. *Reproduction in Farm Animals*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 159–171.
113. Jöchle W, Lamnod DR. 1980, *Control of reproductive functions in domestic animals*. VEB Gustav Fischer Verlag Jena.
114. Karaivanov C, Vlahov K, Petrov M, et al. 1987, *Studies on pre-implantation development of buffalo embryos*. Theriogenology; 28:747-753
115. Khan FA, Das GK, Pande M, et al. 2011, *Changes in biochemical composition of follicular fluid during acyclicity in water buffalo (Bubalus bubalis)*. Anim Reprod Sci; 127:38–42
116. Konigsson K, Gustafsson H, Gunnarsson A, et al. 2001; *Clinical and bacteriological aspects on the use of oxytetracycline and flunixin in primiparaous cows with induced retained placenta and post partum endometritis*. Reprod Domest Anim 36:347.
117. Kumar V. şi Sharma A. (2015) *Gross And Histological Study On The Abattoir Ovaries Of Jaffrabadi Buffaloes* Indian. J. Vet Sci. Biotech Vol. 11 No. 2j p.72-75
118. Kunchithapatham S, Pattabiraman SR. 1994, *Arterial pattern of uterus in buffaloes*. Indian J Anim Reprod 1994; 15:38-40.
119. Luktuke SN, Rao ASP. 1962, *Studies on the biometry of the reproductive tract of the buffalo-cow*. Indian J Vet Sci; 32:106-111.
120. Macgregor R. 1941, *The domestic buffalo*. Vet Rec, 53:443-450.
121. Macmillan KL. 2010, *Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows*. J Reprod Dev; 56, Suppl: S42-S47. – PubMed.
122. Malik RK, Sharma RK, Singh P, et al. 2005, *Follicular dynamics during early postpartum period in buffaloes*. In: *Proceedings of XXI Annual Convention of ISSAR and National Symposium*; 198.

123. Malik RK, Singh P, Tuli RK, et al. 2010, *Ovarian changes and follicular dynamics during postpartum period in Murrah buffaloes*. Indian J Vet Res; 19:43-50.
124. Manik RS, Palta P, Singla SK, et al. 2002, *Folliculogenesis in buffalo (Bubalus bubalis): a review*. Reprod Fertil Dev; 14:315–325.
125. Marai FM, Habeeb AMM. 2010, *Buffaloes reproductive and productive traits as affected by heat stress*. Trop Sub Trop Agro Eco Systems; 12:193-217.
126. McLeod BJ, Williams ME. 1991, *Incidence of ovarian dysfunction in postpartum dairy cows and the effectiveness of its clinical diagnosis and treatment*. Vet Rec 128:121-124.
127. Mircu C., 2008, *Dirijarea funcției de reproducție la vaci*, Ed. Mirton, Timișoara.
128. Mittal D, Garg UK, Shukla S, et al. 2009. *Prevalence of different pathological affections of uterus in buffaloes (Bubalus bubalis) in the Malwa region of Madhya Pradesh*. Buffalo Bull; 28:215-217.
129. Moiola BM, Napolitano F, Puppo S, et al. 1998, *Patterns of oestrus, time of LH release and ovulation and effects of time of artificial insemination in Mediterranean buffalo cows*. Anim Sci; 66:87–91.
130. Moldoveanu, Gh., Gh. Dincă, Gh. Georgescu, A. Petrescu, 1973, *Zootehnia României-Bovine*, Edit Academică, București.
131. Monteiro BM, de Souza DC, Vasconcellos GSF, et al. 2016; *Ovarian responses of dairy buffalo cows to timed artificial insemination protocol, using new or used progesterone devices, during the breeding season (autumn – winter)*. Animal Sci J 87, 13-20.
132. Morrow DA. 1986. *Parturition*. In: Morrow DA, ed. Current Therapy in Theriogenology. Philadelphia: WB Saunders Co; 123–125.
133. Neglia G, Vecchio D, Campanile G. 2009, *Factors affecting embryonic implantation in buffalo*. In: Proceedings of the Europe and Americas Buff Symp Brazil; 69-82.
134. Nicolae Ioana, Bota A., Vidmichi Daniela, Șonea C., 2017, *The chromosomal abnormalities as causes of reproductive failure in buffalo females*, Molecular Cytogenetics, 10(Suppl 1):4.P7
135. Nicolae M, Șonea C., - 2017, *Nutrețurile, valorile lor nutritive și necesarul animalelor*. Ed, Ex Terra Aurum.
136. Ochea, M., Pascal, M., Șonea, A., Bîrțoiu, A. -2015, *The effect of epidural administration of FSH in bovine superovulation protocol*. Scientific papers-series d-animal science, 58, 217-220.
137. Ohashi OM. 1994. *Oestrus detection in buffalo cow*. Buffalo Journal 2, 61 – 64.
138. Pall E., Cenariu M., 2020, *Biotehnici în reproducție*, Ed. Colorama, Cluj-Napoca.
139. Pathiraja N, Abeyratne AS, Perera BMAO, et al. 1979, *Fertility in buffaloes after oestrus synchronization with cloprostenol and fixed time insemination*. Vet Rec; 104:279-281. PubMed.
140. Perera BMAO. 2008, *Reproduction in domestic buffalo*. Reprod Domest Anim; 43 (Suppl.): 200–206. - PubMed.
141. Perera BMAO. 2011, *Reproductive cycles of buffalo*. Anim Reprod Sci; 124:194-199.
142. Plunkett SS, Stevenson JS, Call EP. 1984, *Prostaglandin F2 alpha for lactating dairy cows with a palpable corpus luteum but unobserved estrus*. J Dairy Sci; 67(2):380-7. – PubMed.
143. Popovici M., Budantev A. 2002. *Obstetrică veterinară, ginecologie și biotehnologii în reproducția animalelor*, Litera, Chisinau.
144. Porto-Filho RM, Gimenes LU, Monteiro BM, et al. 2014. *Detection of estrous behavior in buffalo heifers by radiotelemetry following PGF2α administration during the early or late luteal phase*. Animal Reproduction Science 144, 90 – 94.
145. Pramod K, Mahmood S, Singh R. 2002; *Cytological changes during certain reproductive conditions in in vitro uterine flushing in buffaloes (Bubalus bubalis)*. Indian J Anim Reprod; 23:123-125.
146. Presicce GA, Bella A, Terzano GM, et al. 2005, *Postpartum ovarian follicular dynamics in primiparous and pluriparous Mediterranean Italian buffaloes (Bubalus bubalis)*. Theriogenology; 63:1430–1439.
147. Presicce GA. 2007, *Reproduction in the water buffalo*. Reprod Domest Anim; 42:24–32.

148. Pucleanu, C., 2000, *Cercetări privind cunoașterea unor parametri morfologici, fiziologici și productivi la bivolițe, în relație cu diferiți factori de influență*, Teză de doctorat, București.
149. Purohit GN, Barolia Y, Shekhar C, et al. 2011, *Maternal dystocia in cows and buffaloes: a review*. Open J Anim Sci; 2:41-53.
150. Purohit GN. 2014, *Ovarian and oviductal pathologies in the buffalo: Occurrence, diagnostic and therapeutic approaches*. Asian Pacific J Reprod 3:156-168
151. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, et al. 1997, *Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus*. J Dairy Sci; 80:295–300. – PubMed.
152. Rabbani RA, Ahmad I, Lodhi LA, Ahmad N, et al. 2010, *Prevalence of various reproductive disorders and economic losses caused by genital prolapse in buffaloes*. Pak Vet J 30:44-48.
153. Raizada BC, Pandey MD. 1982, *Effect of different treatments on regression of uterus after parturition and subsequent performance of buffaloes*. In: Proceedings of the Buffalo Seminar, Tanuku, India. 14–19.
154. Ramadan AA, Ghoniem AA, Hassan HM, et al. 2001, *Effects of β -carotene, selenium and vitamin A on in vitro polymorphonuclear leukocytic activity in peripartal buffalo*. Theriogenology; 55:693–704.
155. Rosca Monica, Al Sonea, C Sonea, Alina Botea, A Birtoiu, 2008, *Bibliographical data concerning protocols used to evaluate viability of embryos used in embryo-transfer technique* Buletin USAMV Veterinary Medicine, Vol 65.
156. Roy DJ, Luktuke SN. 1962. *Studies on parturition in buffaloes*. Indian J Vet Sci; 32:152–163.
157. Rudolph J., Bruckmaier R. M., Kasimanickam R., Steiner A., Kirchhofer M., Hüsler J., & Hirsbrunner G. 2011. *Comparison of the effect of a CIDR-Select Synch versus a long-term CIDR based AI protocol on reproductive performance in multiparous dairy cows in Swiss dairy farms*. Reproductive biology and endocrinology. RB&E, 9, 151.
158. Runceanu L. 2016, *Sezonalitatea reproducerii animalelor*, Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.
159. Runceanu L. Ciornei Șt.G., Drugociu D., Roșca P., coordinator, 2008, *Biosecuritatea înșămânțărilor artificiale prin spermograma microbiologică, Taurine și Suine*, Ed. Ion Ionescu De Le Brad, Iași,
160. Runceanu L. Gh., Cotea V. Corneliu 2007, *Reproducție, obstetrică și ginecologie veterinară*. Ediția II. Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.
161. Runceanu, L., Drugociu, D., Roșca, P., 2008, *Reproducție, obstetrică și andrologie clinică*. Casa de editură Venus, Iași.
162. Sánchez JA, Romero MH, Suárez V. 2017; *Reproductive seasonality of female buffalo (Bubalus bubalis)*. Rev Investig Vet Perú; 28: 606-18.
163. Sane CR, Kaikini AS, Deshpande BR, et al. 1964, *Study of biometry of genitalia of the Murrah buffalo-cows (Bubalus bubalis)*. Indian Vet J; 41:653-661.
164. Senger PL. 2003, *Pathways to pregnancy and parturition* Current Conceptions, Inc.; 2nd edition; 368; ISBN-10: 0965764818
165. Senger PL. 2005, *Pathways to pregnancy and parturition. Second revised edition*. Pullman, Washington, USA: Current Conceptions, Inc.
166. Senger PL. 2012. *Placentation, gestation & parturition*. In: Pathways to pregnancy & parturition. Oregon: Current Conceptions, Inc.; 292–313
167. Seren E. 1994, *Modificazioni endocrine durante il ciclo estrale della bufala*. Agricoltura e Ricerca; 153:17-24.
168. Shafie MM. 1993, *Seasonal reproductive pattern. Environment effects on water buffalo production*. In: Influence of climate on livestock breeding. World Rev Anim Ed Chupin D. FAO
169. Shah KB, Tripathy S, Suganthi H, et al. 2014, *Profiling of luteal transcriptome during prostaglandin F₂-alpha treatment in buffalo cows: Analysis of signaling pathways with luteolysis*. PLOS One; 9: e104127. – PubMed.
170. Sharma R.K., Jerome A., Purohit G.N. 2014, *Reproductive Physiology of the Male and Female Buffalo*, in: Bubaline Theriogenology by Purohit G.N.

171. Sharma RK, Gandotra VK, Prabhakar S, et al. 2010, *Effect of housing management on reproductive efficiency of buffaloes*. Indian J Anim Sci; 80:768-770.
172. Sharma SS, Luktuke SN. 1985, *A quantitative study of germ cells in prenatal buffalo ovary*. Indian J Anim Reprod; 6:178.
173. Sheldon IM, Lewis SL, Le Blanc S, et al. 2006; *Defining post partum uterine disease in cattle*. Theriogenology 65:1516-1528.
174. Singh D, Bhalla RC, Soni BK. 1966, *Studies on reproduction in Murrah Buffalo cows. I-Process of Parturition*. Indian Vet J; 43:812-819.
175. Singh J, Nanda AS, Adams GP. 2000, *The reproductive pattern and efficiency of female buffaloes*. Anim Reprod Sci; 60-61:593-604.
176. Singh R, Khar SK, Chander S. 1994, *Parturition in buffaloes*. Indian J Anim Sci; 64:1028-1033.
177. Şonea A. Constantin N., Cotruţ M., 1998, *Fiziologia animalelor domestice*, Ed, Coral Sanivet.
178. Sonea A. si col., 2001, *Tehnologia insamantarilor artificiale la animale* Ed. Universitas Company, Bucureşti
179. Sonea A., Zamfirescu Stela, 2004, *Biotehnologii de reproducere la rumegatoarele mici*. ISBN 973-644-113-X
180. Spencer TE, Bazer WF. 2004a, *Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy*. Reprod Biol Endocrinol; 2:49-63.
181. Susanto K.R., Royhan G.M., 2017. *Synchronization of Estrus Using Ovsynch Protocol and Fixed Timed Artificial Insemination (FTAI) in Indigenous Dairy Buffaloes: An Effective Buffalo Breeding Program in Bangladesh*. Asian Journal of Biology 2(1): 1-8.
182. Tandle M.K. and Purohit G.N. 2014, *Genital Tract Affections in the Female Buffalo*, in: *Bubaline Theriogenology* by Purohit G.N.
183. Tervit HR, Rowson LEA, Brand A. 1973, *Synchronization of oestrus in cattle using a prostaglandin F2α analogue*. J Reprod Fertil; 34:179-181. – PubMed.
184. Toba GF, Bogdan AT, Sonea A, Tobă LG, Bârtoiu AI, Paraschivescu MT, Iudith I, 2010, *Research on non-surgical techniques for obtaining embryo donor cows with ovaries superovulated.*, Scientific Works-University of Agronomical Sciences and Veterinary Medicine, Bucharest Series C, Veterinary Medicine Volumul, 56, Numărul, 2, Pag. 198-205.
185. Tomar KPS, Singh P, Singh R, et al. 2002; *Seasonal variation in reproductive problems of buffaloes under field conditions*. Indian J Anim Reprod. 23:18-20.
186. Vale WG, Ohashi OM, 2002, *Problemas de Reproducción en bufalos*. Curso Internacional de Reproducción Bufalina, 93-113.
187. Vale WG, Ohashi OM, Sousa JS, et al. 1982, *Biometria do sistema genital de búfalas (Bubalus bubalis)*. Arq Esc Vet UFMG; 34:193-202.
188. Velea C., Mureşan V., Mărginean G., - 2019, *Etologie, comportamentul bubalinelor*. Ed. Agrotehnică.
189. Velea, C., Gh. Mureşan, I. Bud, N. Marcu, V. David, M. Vomir, M. Corlăţeanu, A. Tăpălagă, 1981, *Stadiul şi perspectivele creşterii şi exploatării bubalinelor în Transilvania*, Buletinul A.S.A.S.
190. Velea, C., I. Bud, A. Tăpălagă, 1983, *Creşterea bivolului*, Editura Ceres, Bucureşti.
191. Verma-Kumar S, Srinivas SV, Muraly P, et al. 2004, *Cloning of buffalo (Bubalus bubalis) prostaglandin F2α receptor: changes in its expression and concentration in the buffalo cow corpus luteum*. Reprod; 127:705-715.
192. Vidu Livia şi Bota A. 2014, *Particularităţile fenotipice, genotipice şi de creştere ale bivolului indigen*, Ed. Pim, Iaşi
193. Vittoria A. 1997. *Anatomy of the female genital tract in the buffalo. Bubalus bubalis*; (Supl I):15-20.
194. Vulpe V., 2006, *Semiologie veterinară*, vol. II., Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iaşi.
195. Webb D. W., 2008, *Artificial Insemination in Dairy Cattle* Published on: 2/6, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida
196. Yindee M, Techakumphu M, Lohachit C, et al. 2011, *Follicular dynamics and estrous detection in Thai postpartum swamp buffaloes (Bubalus bubalis)*. Reprod Domest Anim; 46: e91-96.
197. Youngquist Robert S., Walter R. 2007. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, 2nd Edition, Saunders.

198. Zicarelli L, Esposito L, Campanile G, Di Palo R, Amstrong DT. 1997. *Effects of using vasectomized bulls in artificial insemination practice on the reproductive efficiency on Italian buffalo cow*. Animal Reproduction Science 47, 171 – 180.
199. Zicarelli L. 1993, *Anestro e induzione dell'estro in bufale acicliche*. Atticonv. Su Miglioramento dell, efficienza produttiva e riproduttiva della specie bufalina. Agri e Rie; 153:55-81.
200. Zicarelli L. 1997, *News on buffalo cow reproduction*. In: Proceedings of the Fifth World Buffalo Congress, Caserta, Italy; 124–141.
201. Zicarelli L. 2010, *Enhancing reproductive performance in domestic dairy water buffalo (Bubalus bubalis)*. Reprod Fertil Suppl; 67:443-55.
202. Zicarelli L. 2016, *Estacionalidad Reproductiva en Búfalas*. In: Crudeli G, editor. Reproducción en Búfalas. 1st ed. Argentina: Ediciones Moglia; pp. 73-94.
203. www.bivoli-sercaia.ro, 2020
204. www.cofa.it.com/Cataloghi/2017_Catalogo_Buf_Ita.pdf
205. www.fao.org/ag. 2021
206. www.google.ro/maps/place/Războieni, 2016
207. www.ivis.org

INDEX FIGURI

- Fig. 1.1 Diagrama aparatelor genitale la bivoliță (stânga) și la vacă (dreapta), (Purohit, 2014), pag 21 / Fig.1.1 Schematic diagram of the buffalo's (left) and cattle (right) female genital systems.
- Fig. 1.2 Diagrama pelvisului la bivoliță, pag 22 / Fig.1.2 The diagram of bubaline pelvis (Purohit G.N. 2014).
- Fig. 1.3 Structurile ovariene (foliculi, corp galben) de pe ovarul de bivoliță. (Purohit G.N. 2014) pag 22 / Fig. 1.3 The ovarian structures (follicles, corpus luteum) on the buffalo ovary. (Photo courtesy Prof G.N. Purohit.
- Fig. 3.1 Etapele parturii la bivoliță. Alantocorionul la nivelul vulvei (A), Amniosul și membrele fetale (B), Capul fetal copleț expulzat (C) (Das ș.a., 2014), pag 30 / Fig. 3.1 Sequential events during parturition in buffalo. Arrow indicates allantochorion hanging from the vulva (A), Second water bag/amnion and fetal limbs appearing at the vulva (B) Fetal head completely out (C), (Das ș.a., 2014).
- Fig.4.1 Inseminarea prin metoda colposcopică, (Runceanu L 2008) pag 47. / Fig. 4.1 Insemination by colposcopic method.
- Fig. 4.2 Aprecierea tabloului vaginal și I.A., (Runceanu L 2008) pag 55 / Fig. 4.2 Vaginal appearance and I.A.
- Fig. 4.3 Schema de sincronizare a estrului la bivoliță bazată pe simularea funcției CL utilizând dispozitive intravaginale progesteronice pag 54 / Fig. 4.3 Estrus synchronization pattern in buffalo cow - stimulation of CL function using intravaginal progesterone devices
- Fig. 5.1 Localizarea fermei "TERRA DI BUFALA" (2016), pag 63. / Fig. 5.1 Location of the farm "TERRA DI BUFALA" (www.google.ro/maps/place/Războieni, 2016).
- Fig. 5.2 Bivolul Românesc Indigen, pag 63. / Fig. 5.2 Indigenous Romanian.
- Fig. 5.3 Varietatea Bivolului Românesc Indigen și caracteristicile morfologice (<https://en.wikipedia.org>, 2016), pag 64. / Fig. 5.3 The variety of the Indigenous Romanian Buffalo and the morphological characteristics (<https://en.wikipedia.org>, 2016).
- Fig. 5.4 Evoluția efectivului de bubaline în perioada 2016 – 2017 pag 65. / Fig. 5.4 Dynamics of buffaloes in the period 2016-2017.
- Fig. 5.5 Bivolite aflate în padoc acoperit pag 65. / Fig. 5.5 Buffaloes in covered paddock
- Fig. 5.6 Tineret mascul 9 – 15 luni, pag 65. / Fig. 5.6 Young male 9 - 15 months.
- Fig. 5.7 Tineret femel de 20-30 luni, pag 66. / Fig. 5.7 Young female 20 - 30 months.
- Fig. 5.8 Tineret mascul de 15 – 24 luni, pag 66. / Fig. 5.8 Young male buffalo 15 - 24 months.
- Fig. 5.9. Tineret bubaline femel în vârstă de 12 – 20 luni, pag 66. / Fig. 5.9 Young female buffalo aged 12 - 20 months.
- Fig. 5.10 Întreținerea bubalinelor, lot de tineret mascul, în boxa comună, pag 66. / Fig. 5.10 Maintenance of buffaloes, male youth group, in the common box.
- Fig. 5.11 Lot de bivolițe gestante, pag 66. / Fig. 5.11 Lot of pregnant buffaloes.
- Fig. 5.12 Lot de bivolițe în maternitate, pag 66. / Fig. 5.12 Lot of buffaloes in the maternity.
- Fig. 5.13 Lot de bivolițe lactante împreună cu viței, pag 67. / Fig. 5.13 Lot of lactating buffaloes with calves.
- Fig.5.14 Prezentare S.C.D.C.B. Șercaia Brașov, pag 69. / Fig.5.14 Presentation of the S.C.D.C.B. Șercaia Brașov.
- Fig. 5.15 Bivolite la pășune, pag 70. / Fig. 5.15 Pasture buffaloes.
- Fig. 5.16 Bivolita mamă și vițelul, pag 71. / Fig. 5.16 The mother buffalo and the calf.
- Fig. 5.17 Întreținerea vițelilor în creșă, pag 71. / Fig. 5.17 Maintenance calves in nursery.
- Fig. 5.18 Sistem de întreținere liber a bubalinelor, pag 72. / Fig. 5.16 Free buffalo care system.
- Fig. 5.19 Front de furajare din fermă, pag 72. / Fig. 5.19 The feeding space in the farm.
- Fig. 5.20 Modalitate de păstrare a nutrețurilor, pag 73. / Fig. 5.20 Method of preserving fodder.
- Fig. 5.21 Sistem de irigare al terenului cu porumb pentru siloz, pag 73. / Fig. 5.21 Corn silo irrigation system.
- Fig. 5.22 Sistem de muls utilizat în fermă, pag 73. / Fig. 5.22 Milking system used on the farm.
- Fig. 5.23 Depozitarea cerealelor necesare alcătuirii rațiilor furajere, pag 74. / Fig. 5.23 Storage of cereals necessary for the preparation of feed rations.
- Fig. 5.24 Utilaj agricol utilizat în fermă, pag 74. / Fig. 5.24 Agricultural machinery used on the farm.
- Fig. 6.1 Examinarea trans-rectală la bivolițe. Poziția mâinii operatorului și examenul ginecologic al uterului și ovarelor de bivoliță (Ciornei, ș.a., 2020.), pag 77. / Fig. 6.1 Transrectal examination in buffaloes. The position of the operator's hand and the gynecological examination of the uterus and ovaries in buffalo (Ciornei, ș.a., 2020).
- Fig.6.2 Reprezentare grafică dimensiuni medii ovare bivoliță, în funcție de sezon, anul 2016 pag 91 / Fig.6.2 Graphic representation of average dimensions of buffalo ovaries, depending on the season, year 2016
- Fig.6.3 Reprezentare grafică dimensiuni medii ovare bivoliță, în funcție de sezon, anul 2017, pag 80. / Fig.6.3 Graphic representation of average dimensions of buffalo ovaries, depending on the season, year 2017.
- Fig. 6.4. Reprezentare grafică dimensiuni medii ovare bivoliță anii 2016 – 2017 pag 81. / Fig. 6.4. Graphic representation of medium size buffalo ovaries 2016 – 2017.
- Fig. 6.5. Reprezentare grafică a estrului sezonier spontan la bivolițe, în anul 2016 pag 83. / Fig. 6.5 Graphic representation of spontaneous estrus in buffaloes, in 2016.

Fig. 7.1. Dinamica parturitiilor la Ferma I, perioada 2016 – 2017 pag 88. / Fig. 7.1. The dynamics of calving at Farm I, in the years 2016 – 2017.

Fig. 7.2 Dinamica afecțiunilor ginecologice la bivolițe în Ferma I în anii 2016 și 2017 pag 89. / Fig. 7.2 Dynamics of gynecological diseases in buffalo cows in Farm I in 2016 and 2017.

Fig. 7.3 Dinamica afecțiunilor ginecologice la bivolițe în Ferma II în anii 2017 și 2018 pag 89. / Fig. 7.3 Dynamics of gynecological diseases in buffaloes in Farm II in 2017 and 2018.

Fig.7.4 Protocol de diagnosticare al hipotrofiilor ovariene la bivoliță, pag 91. / Fig.7.4 Diagnostic protocol for ovarian hypotrophy in cow buffalo.

Fig. 7.5 Hipotrofie ovariană de gradul I pag 91. / Fig. 7.5 Grade I ovarian hypotrophy.

Fig. 7.6 Hipotrofie ovariană de gradul II, pag 91. / Fig. 7.6 Grade II ovarian hypotrophy.

Fig. 7.7 Schema terapeutică aplicată pentru tratamentul hipotrofiei de gradul I, pag 92. / Fig. 7.7 Therapeutic scheme applied for the treatment of grade I hypotrophy.

Fig.7.8 Protocol de diagnosticare al CLP la bivoliță, pag 95. / Fig.7.8 Diagnostic protocol of CLP to buffalo.

Fig.7.9 Corp luteal persistent la bivoliță (compact și cavitat), pag 95. / Fig.7.9 Persistent luteal body in buffalo cow.

Fig. 7.10 Chisti luteinici la bivoliță, pag 97. / Fig. 7.10 Luteinic cysts in buffalo.

Fig. 7.11 Schema terapeutică aplicată în Ferma II pentru tratamentul corpului luteal persistent, pag 97. / Fig. 7.11 Therapeutic scheme applied in Farm II for treatment persistent luteal body.

Fig. 7.12 Ovar de bivoliță. Chist Luteinic. A: sondă 8 MHz, dimensiuni 2,7 / 1,8 cm; B: sondă 7,5 MHz, dimensiuni 2,5 / 3,3 cm, pag 98. / Fig. 7.12 Buffalo ovary. Luteinic cyst. A: 8 MHz probe, dimensions 2.7 / 1.8 cm; B: 7.5 MHz probe, dimensions 2.5 / 3.3 cm.

Fig. 7.13 Ovar bivoliță, Chist luteinic după 12 zile de la tratament cu HCG, pag 98. / Fig. 7.13 Buffalo ovary, lutein cyst 12 days after HCG treatment.

Fig 7.14 Aspectul ovarului cu chist luteinic tratat prin combinatia HCG-PG. Corticala ovariană cu zone insulare de fibroză, pag 98. / Fig 7.14 Appearance of the ovary with lutein cyst treated by the HCG-PG combination.

Fig. 7.15 Dinamica parturitiilor și retențiilor placentare în Ferma I, în anii 2016 – 2017 pag 99. / Fig. 7.15 Dynamics of calving and placental retention in buffalo cows in Farm I, in the years 2016 – 2017.

Fig. 7.16 Dinamica parturitiilor și retențiilor placentare în Ferma II, în anii 2017 – 2018, pag 99. / Fig. 7.16 Dynamics of calving and placental retention in buffalo cow in Farm II, in the years 2017 – 2018.

Fig.7.17 Retenție anexe fetale la bivoliță, pag 100. / Fig.7.17 Buffalo fetal annexes retention.

Fig. 7.18 Examen ginecologic transrectal la bivolițe, Îndepartarea placentei, pag 100 / Fig. 7.18 Transrectal gynecological examination in buffalo cows.

Fig. 7.19 Scurgeri vaginale în endometrită, pag 101 / Fig. 7.19 Vaginal discharge in endometritis.

Fig. 7.20 Endometrită cronică cu secreții reduse, pag 101. / Fig. 7.20 Reduced secretion of chronic endometritis.

Fig. 8.1. Protocolul de inducere a estrului la bivolițe pe baza administrării de PGF2 α , pag 104 / Fig. 8.1. Estrogen induction protocol in buffaloes based on PGF2 α administration

Fig. 9.1 Schema protocolului de sincronizare Ovsynch la bivolițele (C.O.F.A.), pag 111. / Fig. 9.1 Schematic of the Ovsynch Synchronization Protocol in Buffaloes (C.O.F.A.).

Fig. 9.2 Schema protocolului Resynch de sincronizare a estrului, pag 111. / Fig. 9.2 Diagram of the Resynch protocol for estrus synchronization.

Fig.10.1 Valori ale eritabilității trăsăturilor morfologice la bubaline luate în considerare de Asociația Națională a Crescătorilor de Bivoli din Italia, pag 120. / Fig. 10.1 Values of heritability of morphological traits in buffaloes taken into account by the National Association of Buffalo Breeders in Italy.

Fig.10.2 Caracteristici morfologice ale trăsăturilor la bivol - vedere laterală (www.cofa-it.com/Cataloghi), pag 121. / Fig. 10.2 Morphological characteristics of buffalo traits, lateral vision.

Fig. 10.3 Caracteristici morfologice ale trăsăturilor la bivol - vedere caudală (www.cofa-it.com/Cataloghi), pag 121. / Fig. 10.3 Morphological characteristics of buffalo traits, caudal vision.

Fig. 10.4 Schema protocolului de sincronizare Ovsynch a estrului la bivolițele (C.O.F.A.), pag 122. / Fig. 11.4 Schematic, the Ovsynch protocol of the estrus buffaloes (C.O.F.A.).

Fig. 10.5 Bivoliță cu scurgeri estrale moderat cantitativ, pag 125. / Fig.10.5 Buffalo with moderately quantitative estrous discharge.

Fig.10.6 Padocuri cu umbrare, sistem de ventilare și dușare pentru bivolițe, pag 125. / Fig.10.6 Shovel paddocks, ventilation and shower system for buffaloes.

Fig. 10.7 Metoda de recoltare a embrionilor prin flushing; A. schematic; B. original, pag 129. / Fig. 10.7 Method of harvesting embryos by washing; A. sketch; B. original.

Fig. 10.8 Pasajul cervixului cu cateter. Se observă stiletul în interiorul corpului uterin, pag 129. / Fig.10.8 Passage of the cervix.

Fig. 10.9 Efectuarea flushing-ului pe vârful cornului uterin, pag 129. / Fig 11.11. Flushing in the uterus horn.

Fig. 10.10 Stadiile de dezvoltare ale embrionului bubalin (Hufana-Duran și Duran, 2015). Pag 130. / Fig. 10.10 Developmental stages of the buffalo embryo (IVIS).

Fig. 10.11 Sincronizarea receptoarelor și momentul ET, pag 131. / Fig. 10.11 Receiver synchronization and ET timing.

Fig. 10.12 Protocolul de sincronizare al ovulației donatoarelor cu Pluset, pag 132.. / Fig. 10.12 Ovulation synchronization protocol with Pluset

Fig. 10.13 Protocolul de sincronizare al ovulației donatoarelor cu Spirale PRIDE DELTA-PG-PMSG, p.133 / Fig. 10.13 Ovulation synchronization protocol with PRIDE DELTA-PG-PMSG

Fig. 10.14 Protocolul de sincronizare al ovulației donatoarelor cu Spirale PRIDE DELTA-PG-PLUSET, p.133 / Fig. 10.14 Ovulation synchronization protocol with PRIDE DELTA-PG-PLUSET

Fig. 10.15 Ovar de bivoliță poliovulat cu PMSG, la momentul estrului, se observă foliculi multipli dar de dimensiuni medii , pag.134 / Fig. 10.15 Polyovulated buffalo ovary with PMSG, at the time of estrus, multiple but medium-sized follicles are observed.

Fig.10.16 Ovar de bivoliță poliovulat cu PMSG, după 7 zile de la momentul estrului, se observă foliculi neovulați polichistici,p.134 / Fig.10.16 Poliovulated buffalo ovary with PMSG, after 7 days from the time of estrus, ovaries with polycystic unovulated follicles

Fig.10.17 Ovar de bivoliță cu 6 foliculi, la momentul estrului în poliovulația cu Pluset, pag.135 / Fig. 10.17 Buffalo ovary with 6 follicles, at the time of estrus in the polyovulation with Pluset

Fig.10.18 Inocularea (transferul propriu-zis) embrionului obținut in vivo, pag 135 / Fig. 10.18 Inoculation (actual transfer) of the embryo obtained in vivo

Fig.10.19 Ovar de bivoliță cu dimensiunea de 1,9/2,5 cm, și cu 2 CL, la momentul flushing-ului uterin, pag .137 / Fig. 10.19 Buffalo ovary with a size of 1.9 / 2.5 cm, and with 2 CL, at the time of uterine flushing

Fig.10.20 Ovar de bivoliță cu 4 CL și dimensiune de 1,77/2,9 cm , pag.137 / Fig.10.20 Buffalo ovary with 4 CL and size of 1.77 / 2.9 cm

Fig. 10.21 Extras din Raportarea IETS din 17.01.2020, SUA. România și Italia au raportat activități de embrio-transfer la bubaline, pag137 / Fig. 10.21 Quoted from the IETS Report of 17.01.2020, USA, Romania and Italy reported embryo-transfer activities in buffaloes.

Fig. 10.22 Recoltarea ovocitelor de bivoliță prin puncție și aspirare, pag 141/ Fig. 10.22 Collection of buffalo oocytes by puncture and aspiration

Fig. 10.23 Recoltarea ovocitelor de bivoliță prin felierea ovarelor. pag 141 / Fig. 10.23 Collection of buffalo oocytes by slicing the ovaries

Fig. 10.24 Ovocite de calitate superioară încadrate în clasa I (A) Complexul cumulus ooforum este evident, compact, în multe straturi în jurul ovocitei, membrana pelucidă integră, spațiu perivitelin evident, cromatină fin granulară și omogenă, pag. 143 / Fig. 10.24 High-quality oocytes in Class I (A) The cumulus ooforum complex is obvious, compact, in many layers around the oocyte

Fig. 10.25 Grup de ovocite (complex ovocită-cumulus) încadrate în clasa a II-a (B). Straturi cumulus compacte, ooplasma granulară, spațiu perivitelin evident, pag.143 / Fig. 10.25 Group of oocytes (cumulus oocyte complex) classified in class II (B). Compact cumulus layers, granular ooplasm, obvious perivitelline space

Fig. 10.26 Ovocite încadrate în clasa III (C) cu cromatină fragmentată și vacuolizată, puține straturi de cumulus , pag.144 / Fig. 10.26 Class III (C) oocytes with fragmented and vacuolised chromatin, few cumulus layers.

Fig. 10.27 Grup de ovocite încadrate în clasa IV (D) cu cromatina condensată, membrana pelucidă fracturată, cumulus lipsă s-au neomogen, pag.144 / Fig. 10.27 Group of class IV (D) oocytes with condensed chromatin, fractured pellucid membrane, missing cumulus were inhomogeneous

Fig. 11.1 Aprecierea dimensiunilor și greutateii ovarelor prin metode biometrice, A. Măsurare, B. Cântărire, pag.148 / Fig. 11.1 Assessment of ovarian size and weight by biometric methods, A. Measurement, B. Weighing

Fig. 11.2 Aspect macroscopic al aparatului genital la bivolițe. Vedere de ansamblu a structurilor anatomo - obstetricale nedisecate, pag.149 / Fig. 11.2 Macroscopic appearance of the complete genital tract in buffaloes. Overview of undissected anatomical - obstetric structures

Fig. 11.3 Aspecte morfometrice ale uterului și ovarelor la bivolițele sacrificate. pag. 150. / Fig. 11.3 Morphometric aspects of the uterus and ovaries in slaughtered buffaloes.

Fig. 11.4 Aparat genital de bivoliță freemartină. V. – vulvă, C. – clitoris, M.U. – meat urinar, V.V. - vestibul vaginal, VG. – vagin, pag. 150 / Fig. 11.4 Freemartine buffalo genitalia

Fig. 11.5 Uter gestant de bivoliță la două luni. A. Uter neseționat; B. Uter secționat și evidențiat embrionul, pag .152 / Fig. 11.5 Pregnant uterus of buffalo at two months. A. Unsectional uterus; B. Uterus sectioned and embryo highlighted

Fig 11.6 Utere gestante de bivoliță (3 luni – stânga, 4 luni - dreapta) , pag. 152 / Fig 11.6 Pregnant buffalo uterus

Fig. 11.7 Uter gestant, corn uterin drept în diametru de 5,5 cm pag.153 / Fig 11.7 Pregnant uterus

Fig. 11.8 Uter gestant, corn uterin stâng în diametru de 7 cm. pag.153 / Fig 11.8. Pregnant uterus

Fig. 11.9 Aspect de ansamblu al uterului secționat la bivoliță. C.U. – corp uterin, O.ST. – ovar stâng, CORN U. – corn uterin, pag. 153 / Fig. 11.9 Overall appearance of the uterus sectioned at the buffalo. C.U. - uterine corpus, O.ST. - left ovary, CORN U. - uterine horn

Fig. 11.10 Aparat genital de bivoliță. Aspectul aparatului și topografia ovarelor pag. 154 / Fig. 11.10 Buffalo genitalia. Appearance the tract and topography of the ovaries

Fig.11.11 Uter de bivoliță, aspect pe secțiunea longitudinală, pag.155 / Fig.11.11 Buffalo uterus, appearance on the longitudinal section

Fig. 11.12 Ovar de bivoliță cu foliculi evolutivi și un mic corp luteal în faza de involuție (albicans) p.157 / Fig. 11.12 Buffalo ovary with evolutionary follicles and a small luteal body in the involution phase (albicans)

Fig. 11.13 Ovar de bivoliță cu dimensiunea de 2/1,5 cm, cu aspect globulos, lucios, de culoare roz pal, pag.157 / Fig. 11.13 Ovary buffalo size of 2 cm / 1.5 cm, globular appearance, shiny, pale pink

Fig. 11.14 Ovar de bivoliță cu doi corpi luteali (aspect pe secțiune), unul în faza activă, de culoare vișinie și celălalt în faza de involuție, de culoare gălbuie, pag. 158 / Fig. 11.14 Buffalo ovary with two luteal bodies (sectioned appearance), one in the active phase, cherry in color and the other in the involution phase, yellowish in color

Fig. 11.15 Ovar polichistic la bivoliță. A. Aspect macroscopic. Ovarul prezintă o formă aproape sferică, cu suprafața ușor dantelată. Mărimea ovarului este de aproximativ 4 cm. Peretele subțire lasă să se observe un lichid translucid gălbui în interior. B. Secțiune, pag 160, / Fig. 11.15 Polycystic ovary in buffalo. A. Macroscopic appearance. The ovary has an almost spherical shape, with a slightly laced surface. The size of the ovary is about 4 cm. The thin wall reveals a yellowish translucent liquid inside. B. Section through the ovary.

Fig. 11.16 Ovar de bivoliță, macroscopic. Ovar globulos cu foliculi cavitari (A, C) și aspectul lor pe secțiune (B, F), secțiune ovar CL în organizare (D), Ovar cu CL chistic (E). pag .160 / Fig. 11.16 Buffalo ovaries ,macroscopic Globular ovary with cavitory follicles (A, C) and their appearance on section (B, F), CL ovarian section in organization (D), Ovary with cystic CL (E).

Fig. 11.17 Aspecte macroscopice patologice utero-ovariene. Hidrosalpinx unilateral stâng (A), chist parasalpingian și ovar polichistic (B), chist al CL (C), aderențe parauterine (D). pag. .161 / Fig. 11.17 Pathological macroscopic aspects of utero-ovaries. Left unilateral hydrosalpinx (A), parasalpingian cyst and polycystic ovary (B), CL cyst (C), parauterine adhesions (D).

Fig. 11.18 Ovar bivoliță, col. HEA. Structura unui folicul terțiar de bivoliță. FIG., pag. 165 / Fig.11.18 Buffalo ovary, col. HEA. The structure of a tertiary buffalo follicle TE – teaca externă, TI – teaca internă, G – granuloasă

Fig. 11.19 Ovar bivoliță, col. HEA. Aspectul granuloasei și al discului proliger la un folicul dominant, pag. 165 / Fig.11.19 Buffalo ovary, col. HEA. Appearance in detail

Fig. 11.20 Ovar bivoliță, col. HEA. Structura peretelui foliculului preovulator la bivoliță. TE în diametru de 144 μm, TI cu dimensiunea de 99 μm, cu celule secretorii, membrana Savjanski cu delimitare distinctă, granuloasă (G) de 66 μm, pag.161 / Fig. 11.20 Preovulatory follicle wall structure

Fig. 11.21 Ovar bivoliță, col. HEA. Folicul cavitat de 2,4 mm. Antrul ocupat cu lichid folicular, pag. 165 / Fig. 11.21 Oval buffalo, HEA collar. 2.4 mm cavity follicle. Follicle occupied with follicular fluid

Fig. 11.22 Ovar bivoliță, col. HEA. Doi foliculi cavitari în evoluție, între 1,3 – 1,5 mm, pag .166 / Fig. 11.22 Oval buffalo, col. HEA. Two evolving cavitory follicles, with a diameter between 1.3 - 1.5 mm

Fig. 11.23 Ovar de bivoliță, col. HEA. Corp luteal. Printre celulele luteale mari se observă eozinofile plasmatice de culoare roz, pag. .166. / Fig. 11.23 Buffalo ovary, col. HEA. CL

Fig. 11.24 Oviduct de bivoliță, col. HEA. Se observă epiteliu dantelat cu aspect ciliat prismatic. Mucoasa oviductului predomină, iar musculoasa este sub forma unor fibre rarefiate și intercalate de vase,, pag. 166 / Fig. 11.24 Oviduct of buffalo, col. HEA.

Fig. 11.25 Uter de bivoliță, col. HEA. Aspectul glandelor uterine din lamina propria, cu canale sinuoase și traectorie tubular rectilinie, pag.166 / Fig. 11.25 Buffalo uterus, col. HEA. The appearance of the uterine glands

Fig. 11.26 Uter bivoliță, vascularizație, col. PAS. Mucoasa are un aspect vacuolizat, pe baza activității secreției intense glandulare. Miometrul este foarte evident cu multe fibre musculare. Între leucite se identifică o rețea bogată de vase aglomerate, pag. 166 / Fig. 11.26 Buffalo uterus, vascularization

Fig. 12.27 Plex vascular uterin, col. PAS. Compus din artere, vene și capilare. Artera din imagine prezintă hematii captive, venele sunt dilatate și cu pereții subțiri, iar capilarele au diverse calibre și prezintă hematii, p.196 / Fig.12.27 Uterine vascular plexus, col. PAS.

Fig. 11.28 Ovar de bivoliță cu foliculi, col. HEA. Foliculi evolutivi (secundari și terțieri) cu granuloasă încărcată în lipide, pag. 167 / Fig.11.28 Follicle ovary with follicles, HEA.

Fig. 11.29 Ovar de bivoliță, col. HEA. Folicul cavitat. Teaca externă a foliculului cu capilare sangvine ectaziate. În plan superior sunt vizibili foliculii primordiali, pag.167 / Fig.11.29 Buffalo ovary, col. HEA. Cavitory follicle.

Fig.11.30 Ovar de bivoliță, col. HEA. Chist folicular Peretele chistului folicular prezintă detașarea granuloasei. Dimensiunea 2,4 mm, pag. 167 / Fig. 11.30 Buffalo ovary, col. HEA. The cyst wall

Fig. 11.31 Perete chist ovarian bivoliță, col. HEA. Structura bine evidențiată densă cu orientare cavitată, pag. 167 / Fig. 11.31 Buffalo ovarian cyst wall, col. HEA

Fig. 11.32 Uter bivoliță. col. HEA. Necroza glandelor endometriale. Amiloidoză în submucoasă, pag 167 / Fig.11.32 Buffalo uterus. col. HEA. Necrosis of the endometrial glands

Fig. 11.33 Uter bivoliță, col. HEA. Amiloidoza severă a corionului. Amiloid imun, consecință a endometritei purulente cornice. Celule inflamatorii reactive. pag. 167 / Fig. 11.33 Buffalo uterus, col. HEA. Severe amyloidosis of the chorion.

Fig. 11.34 Uter bivoliță, col. HEA. Aspect de ansamblu al degenerării endometrului și miometrului în cazul unei metrite purulente consecutive retenției anexelor fetale, pag.168 / Fig. 11.34 Buffalo uterus, col. HEA. Overview of endometrial degeneration

Fig 12.1 Ovar de bivoliță cu corp luteal gestativ (CLG), pag. 175 / Fig. 12.1 Buffalo ovary with gestational luteal body

Fig 12.2 Gestatie bivoliță 29 zile, sondă 7,5 MHz. Embriion excentric și lichid embrionar acumulat în lumenul uterin, pag. 175 / Fig. 12.2 Buffalo gestation 29 days, 7.5 MHz probe. Eccentric embryo and embryonic fluid accumulated in the uterine lumen

Fig 12.3 Uter bivoliță, 31 zile de gestație, sondă 6 MHz. Lichid amniotic și embrion hiperecogen pag. 176 / Fig. 12.3 Buffalo uterus, 31 days gestation, 6 MHz probe. Amniotic fluid and hyperechoic embryo

Fig 12.4 Uter bivoliță, 33 zile de gestație, sondă 8 MHz. Diametru uterin hipoeecogen, buton embrionar de 10 mm, pag. 176 / Fig. 12.4 Buffalo uterus, 33 days gestation, 8 MHz probe. Hypoechoic uterine diameter, 10 mm embryonic bud

Fig 12.5. Uter bivoliță, 38 zile de gestație, sondă 6 MHz. Diametru uterin aproximativ 2 cm și embrion excentric, pag. 176 / Fig. 12.5 Buffalo uterus, 38 days gestation, 6 MHz probe. Uterine diameter about 2 cm and eccentric embryo

Fig.12.6. Uter bivoliță, 39 zile de gestație, sondă 6 MHz. Se diferențiază butonii centurii pelvine și membrele, pag. 176 / Fig. 12.6 Buffalo uterus, 39 days gestation, 6 MHz probe. The buttons of the pelvic girdle and the limbs are differentiated.

Fig 12.7 Uter bivoliță, 40 zile de gestație, sondă 6 MHz. Lumenul uterin destins de lichide, excentric se observă embrionul alungit cu hiperecogenitate la capete, pag. 176 / Fig. 12.7 Buffalo uterus, 40 days gestation, 6 MHz probe.

Fig 12.8 Uter bivoliță, 44 zile de gestație, sondă 6 MHz. Evidențierea membranei și lichidului amniotic, pag.176 / Fig. 12.8 Buffalo uterus, 44 days gestation, 6 MHz probe. Highlighting the membrane and amniotic fluid

Fig 12.9 Uter bivoliță, 55 zile de gestație, sondă 6 MHz. Este vizibilă coloana vertebrală în regiunea cervicală și splanhocraniu cu partea mandibulară și orbital, pag. 177 / Fig. 12.9 Buffalo uterus, 55 days gestation, 6 MHz probe.

Fig 12.10 Uter bivoliță, 62 zile de gestație, sondă 6 MHz. Vertebrele cocigiene și membrul stâng posterior, pag.177 / Fig. 12.10 Buffalo uterus, 62 days gestation, 6 MHz probe. Coccygeal vertebrae and left hind limb

Fig 12.11 Uter bivoliță, 60 zile de gestație, sondă 8 MHz. Zona cefalică cu maxila mandibula și orbite foarte vizibile, pag.177 / Fig 12.11 Buffalo uterus, 60 days gestation, 8 MHz probe.

Fig 12.12 Uter bivoliță, 67 zile de gestație, sondă 6 MHz. Diametru toracic peste 2,5 cm, pag. 177 / Fig 12.12 Buffalo uterus, 67 days gestation, 6 MHz probe

Fig 12.13 Gestație 70 zile, sondă 6 MHz. Diametrul sacului embrionar de 4,17 cm, schelet complet format, pag. 177 / Fig 12.13 Gestation at 70 days, 6 MHz probe.

Fig 11.14 Gestație bivoliță. Sondă 6 MHz Cord fetal în diametru de 4,12 cm, pag.177 / Fig 11.14 Buffalo gestation. 6 MHz probe, Fetal cord with a diameter of 4.12 cm

INDEX TABELE

Tabel 1.1 Dinamica efectivelor de bivoli în România între anii 1920 - 2019 (după FAO, 2021) pag 18 / Table 1.1 Dynamics of buffalo herds in Romania between 1920 and 2019 (after FAO, 2021).

Tabelul 2.1 Caracteristicile reproducției la bovine și bubaline (Hafez, 2001), pag 26 / Table 2.1 Reproductive characteristics in cattle and buffaloes (Hafez, 2001).

Tabelul 4.1 Influența momentului IA sau a montei asupra fecundității la vaci (după Trimberger și Favis 1999) pag 45 / Table 4.1 The Influence of the I.A. or mounting on fertility in cows (after Trimberger and Favis 1999).

Tabelul 4.2 Tratament hormonal pentru sincronizarea estrului și aplicarea IA la timp fix; utilizare de progestine intravaginale (PRID/CIDR/DIB) (<http://www.ivis.org/>) pag 54 / Table 4.2 Hormone treatment for synchronization of estrus and AI application at a fixed time; use of intravaginal progestins (PRID / CIDR / DIB) (<http://www.ivis.org/>).

Tabelul. 5.1 Materialul biologic și repartizarea bubalinelor pe sex și categorii de vârstă (2016 - 2017), pag 65. / Biological material and distribution of buffaloes by sex and age categories (2016 - 2017).

Tabelul 5.2 Materialul biologic și repartizarea bubalinelor pe sex și categorii de vârstă (2017), pag 72. / Biological material and distribution of buffaloes by sex and age categories (2017).

Tabelul 6.1 Elemente de morfometrie și semiologie ginecologică necesare pentru aprecierea dimensiunilor ovariene și genitale, pag 78. / Table 6.1 Elements of morphometry and gynecological semiology necessary for the assessment of ovarian and genital dimensions.

Tabelul 6.2 Dimensiuni medii ovare bivoliță, în funcție de sezon, anul 2016 pag 78. / Table 6.2 Average dimensions of buffalo ovaries, depending on the season, 2016.

Tabelul 6.3 Dimensiuni medii ovare bivoliță, în funcție de sezon, anul 2017, pag 80. / Table 6.3 Average dimensions of buffalo ovaries, depending on the season, 2017.

Tabelul 6.4 Sezonabilitatea estrului spontan la bivolițe pag 83. / Table 6.4 The seasonality of spontaneous estrus in buffaloes.

Tabelul 6.5 Principalii indici de reproducție la bivolițe, în condiții naturale de creștere în anii 2016 – 2017 în ferma de la Razboieni, județ Iași, pag 85. / Table 6.5 The main reproduction indicators for buffalo cows, in natural growth conditions in the years 2016 - 2017 in the farm from Razboieni, Iași county.

Tabelul 6.6 Evoluția SP și aCI la bivolițele de la SCDCB Șercaia, în anii 2018 – 2019, pag 86. / Table 6.6 SP and CI for buffalo cows from SCDCB Șercaia, in the years 2018 – 2019.

Tabelul 7.1 Parturiții înregistrate la bivolițe, la Ferma I, în anii 2016 – 2017, pag 88. / Table 7.1 Calvations registered at buffalo cows, at Farm I, in the years 2016 – 2017.

Tabelul 7.2 Afecțiunile ginecologice diagnosticate la bivolițe în Ferma I în anii 2016 și 2017, pag 88. / Table 7.2 Gynecological diseases in buffalo cows in Farm I in 2016 and 2017.

Tabelul 7.3 Afecțiuni ginecologice la bivolițe în Ferma II în anii 2017 și 2018, pag 89. / Table 7.3 Gynecological diseases in buffaloes in Farm II in 2017 and 2018

Tabelul 7.4 Protocolul terapiei hipotrofiei ovariene de gradul II, în Ferma II, pag 93. / Table 8.1 Grade II ovarian hypotrophy therapy protocol in Farm II.

Tabelul 8.1 Apariția estrului și rata concepției (RC) după protocolului PG cu una sau doua administrări, pag 106. / Table 8.1 The appearance of estrus and conception rate (RC) in buffaloes following the PG one and two shot protocol.

Tabelul 8.2 Schema de tratament combinată între PRID, PGF și PMSG, pag 107. / Table 8.2 Combined treatment regimen between PRID, PGF and PMSG.

Tabelul 8.3 Inducerea estrului și rata concepției (RC) la bivolițe în urma protocolului de gestionare a valurilor foliculare cu PRID, PGF și PMSG, pag 107. / Table 8.3 Estrus induction and conception rate (CR) in buffaloes following the follicular wave management protocol with PRID, PGF and PMSG.

Tabelul 9.1 Centralizator privind rata concepției în urma protocolului OvSynch și ReSynch pe categorii ginecologice și anopimp, pag 112. / Table 9.1 Centralization on the conception rate following the OvSynch and ReSynch protocol by gynecological and anopimp categories.

Tabelul 9.2 Rata concepției în sezonul primăvară-vară, în funcție de categoria ginecologică în anii 2015 – 2017, la ferma BR, pag 113. / Table 9.2 The conception rate in the spring-summer season, depending on the gynecological category, in the years 2015 - 2017, at the BR farm.

Tabelul 9.3 Rata medie a concepției în funcție de categoria ginecologică și anotimp la bivolițe în anii 2015 – 2017, perioada toamnă – iarnă, pag 115. / Table 9.3 The conception rate according to the gynecological category and buffalo season in the years 2015 - 2017, autumn - winter period.

Tabelul 9.4 Efectul categoriei ginecologice asupra ratei concepției la bivolițe în perioada toamnă-iarnă, pag 116. / Table 9.4 The effect of the gynecological category on the conception rate in the buffalo cow in autumn-winter.

Tabelul 10.1 Indici morfologici la bivoliile luate în studiu, pag 119. / Table 10.1 Morphological indices in the buffaloes studied.

Tabelul 10.2 Rezultatele efectării I.A. după sincronizarea estrului cu protocolul Ovsynch, pag 122. / Table 10.2 The results of performing I.A. after synchronization of estrus with the Ovsynch protocol.

Tabelul 10.3 Rezultatele efectării I.A. după sincronizarea estrului prin luteoliză, pag 126. / Table 10.3 The results of performing I.A. after synchronization of the estrus with the luteolysis protocol.

Tabelul 11.1 Centralizator privind biometria segmentelor aparatului genital la bivolița indigenă Românească (măsurătorile sunt exprimate în cm) pag. 154 / Table 11.1 Centralizer regarding the biometrics of the genital apparatus segments at the Romanian native buffalo (measurements are expressed in cm)

Tabelul 11.2 Morfometrie și particularități ale segmentelor uterine și ovariene la bivoliță, pag.156 / Table 11.2 Morphometry and particularities of the uterine segments in cow buffalo

Tabelul 11.3 Dimensiuni medii ale ovarelor de bivoliță, după unii autori, pag. 158 / Table 11.3 Average dimensions of buffalo ovaries, according to some authors

Tabelul 11.4 Incidența afecțiunii aderențe ovaro-bursale la bivolițe în diferite studii exprimate în procente p.159 / Table 11.4 The incidence of ovarian adhesion conditions in buffaloes in various studies

Tabelul 11.5 Incidența chisturilor ovariene la bivolițe, în diferite studii, exprimate în procente, pag 159 / Table 11.5 Incidence of ovarian cysts in buffalo cows, in various studies, expressed as a percentage

Tabelul 12.1 Diagnosticul de gestație pe categorii de vârstă prin ETR la bivolițe, pag. 173 / Table 12.1 Diagnosis of gestation, after age by transrectal examination in buffaloes

Tabelul 12.2 Particularitățile de gestație la bivoliță în dinamica vârstei, prin examen clinic transrectal, pag. 175 / Table 12.2. Peculiarities of gestation in buffalo-cow in the dynamics of age, by transrectal examination

ANEXA I

LISTA LUCRARILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

I. Articole BDI prim autor:

1. **GHINET (CIORNEI) LILIANA**, DRUGOCIU D., ROSCA P, CIORNEI Ș. G. **2019** - Induction of estrus in buffalo by luteolysis management (single PGF and dual administration). *Lucrări Științifice*, vol. 62 (18) 4, Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași, p. 442-444.

2. **GHINET (CIORNEI) LILIANA**, CIORNEI Ș. G, DRUGOCIU D., ROSCA P, AGAPE G. **2016** - Seasonality of clinical estrus in buffalos. *Lucrări Științifice*, vol. 59 (18) III, Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași, p. 348-352.

II. Articole BDI coautor:

1. CIORNEI Ș. G, DRUGOCIU D., ROSCA P, **GHINET LILIANA (CIORNEI)**, **2020**. Response to poliovulatory (POV) treatment, by ultrasound in suffolk breed, vol. 63 (3) -, Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași 119 – 221.

2. CIORNEI Ș. G, DRUGOCIU D., ROSCA P, **GHINET LILIANA (CIORNEI)**, **2019** - Comparative studies of inducing estrus in suffolk breed sheep, as the choice of the optimal receptor synchronization scheme, in vivo embryo transfer protocol. *Lucrări Științifice*, vol. 62 (21) -, Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași 155 – 159.

3. CIORNEI Ș. G, DRUGOCIU D., ROSCA P, **GHINET LILIANA (CIORNEI)**, **2018** - *Polyovulatory response and in vivo embryo production at the romanian indigenous buffalo, out of breeding season in n-e of Romania*, *Lucrări Științifice*, vol. 61 -IV, Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași 286 – 291.

4. CIORNEI Ș. G, DRUGOCIU D., ROSCA P, **GHINET LILIANA**, **2017**, *Protocol of polyovulation to donor buffaloes (Romanian Buffaloes)* - vol. 60 -IV Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași 422-426.

5. CIORNEI Ș, DAN DRUGOCIU, PETRU ROȘCA, FLORIN NECHIFOR, CARMEN CREȚU, **LILIANA GHINET (CIORNEI)**, GABRIEL AGAPE. **2016**, Correlations between some physicochemical parameters, electrical conductivity and somatic cells count in subclinical mastitis in goat. *Lucrări Științifice*, vol. 59 (18) III, p. 345 – 347.

III. Articole publicate în rezumat în suplimente ale revistelor ISI, coautor:

1. STEFAN CIORNEI, DAN DRUGOCIU, PETRU ROSCA, **LILIANA CIORNEI**, **(2020)** - *Increasing the genetic potential in a nucleus of Romanian Buffaloes, by artificial insemination with sexed semen, after stimulation with OvSynch protocol* - A Case Report, *Anim Reprod.* 2020;17(3), TAI, FTET and AI p3, FI 0,916.

2. STEFAN CIORNEI, DAN DRUGOCIU, PETRU ROSCA, **LILIANA CIORNEI**, **(2020)** - *Poliovulatory response and embryo recovery rate in beef sheep in Romania, as a possibility for genetic development* - A case report. *Anim Reprod.* 2020;17(3), OPU/IVF and ET p.10, FI 0,916.

IV. Articole ISI proceeding, coautor:

1. TOBĂ G.F., CIORNEI Ș.G, PARASCHIVESCU M., TOBĂ L., **CIORNEI LILIANA**, BĂNĂȚEANU F. **2021** - *Identification, monitoring and conservation of the biodiversity of the national heritage of the romanian buffalo breed, using breeding biotechnologies*. Proceeding ESPERA 2019, Peter Lang D. Retrieved 2021, in press.

2. CIORNEI Ș. G, DRUGOCIU D., ROSCA P, **GHINET LILIANA (CIORNEI)** **2020** - Caesarean section in uterine torsion at Buffalo (RIB) – a case study, *Rev Rom Med Vet* (2020) 30 | 2: 53-56, ISSN: 1220-3173; E-ISSN: 2457-7618