

REZUMAT

Teza de doctorat intitulată „**CERCETĂRI PRIVIND CARENȚA ÎN CUPRU ȘI ZINC LA TAURINE**” are caracter de originalitate prin evaluarea impactului carențelor de cupru și zinc asupra performanțelor de sănătate, producție și reproducție la vacile de rasă Bălțată cu Negru Românească, analiza comparativă a statusului în cupru și zinc la vacile de rasă Holstein și Brună de Austria aflate în gestație avansată și investigarea statusului în cupru, zinc, selenium, fier, a profilului hematologic și stabilirea corelațiilor acestora dintre vacile și vițeii lor de rasă Montbeliarde și Charolaise. Caracterul de originalitate al tezei reiese și prin analiza statusului în cupru și zinc la vițeii de rasă Bălțată cu Negru Românească și corelarea acestora cu parametrii hematologici și biochimici, dar și prin stabilirea situației în care utilizarea parametrilor fiziologici de la taurinele adulte este necorespunzătoare pentru viței.

Teza cuprinde un număr de 267 pagini și este structurată în două părți.

Partea bibliografică este alcătuită din 49 de pagini, fiind sistematizată în 4 capitole ce prezintă date selectate din surse bibliografice din literatura de specialitate referitoare la cuprul și zincul la taurine și interrelațiile acestor oligominerale.

Partea a doua, de *Contribuții personale* se desfășoară pe un număr de 165 de pagini și cuprinde 8 capitole, în care se prezintă scopul și importanța cercetărilor, materialele și metodele de lucru, rezultatele obținute, discuțiile aferente, precum concluziile generale care s-au desprins din cercetările efectuate.

Datele prezentate sunt susținute de 7 tabele și 6 figuri inserate în partea de *Studiu bibliografic*, 17 tabele și 67 figuri inserate în partea de *Contribuții personale*. Lista bibliografică însumează 260 de titluri din literatura autohtonă și internațională și fișiere de internet cu conținut de specialitate. În conținutul tezei se regăsesc date proprii publicate în lucrările științifice susținute în cadrul Simpozioanelor cu participare internațională, în Revista Română de Medicină Veterinară și în revista Cercetări Agronomice în Moldova.

Importanța temei alese vine din faptul că deficiențele în oligo-elemente afectează negativ sănătatea, producția și reproducția la taurine. Suplimentarea cu minerale a rațiilor la taurine este importantă nu numai pentru animale dar și pentru fermier care ar putea beneficia de o mai bună productivitatea a animalelor sale și deci de un câștig financiar mai bun dacă statusul în oligoelemente la animale ar fi adecvat. Din momentul în care animalele sunt carentate, produsele lor (carne, lapte) sunt de asemenea carentate. Carnea și laptele sunt consumate de oameni care au nevoie la rândul lor de un aport suficient de oligo-elemente pentru sănătatea lor. Există studii care au demonstrat clar impactul pozitiv al suplimentării cu minerale asupra sănătății, astfel că suplimentarea animalelor cu oligo-elemente are efecte pozitive asupra omului.

Scopul cercetărilor a fost de a evalua statusul în cupru și zinc la taurinele de rase (Bălțată cu Negru Românească, Holstein, Brună de Austria, Charolaise și Montbeliarde), vârste (viței, vaci) și stări fiziologice (lactație, gestație avansată) diferite. În vederea realizării acestui deziderat s-a urmărit parcurgerea următoarelor obiective:

- ✓ Evaluarea statusului în cupru și zinc în funcție de aportul acestor oligo-elemente sub formă de sulfat și a corelației acestora cu performanțele de sănătate, producție și reproducție la taurinele de rasă Bălțată cu Negru Românească.
- ✓ Analiza statusului în cupru și zinc la vacile de rasă Holstein și Brună de Austria, aflate în gestație avansată și corelația acestora cu parametrii hematologici și biochimici.
- ✓ Analiza statusului în cupru și zinc la vițeii de rasă Bălțată cu Negru Românească și corelarea acestora cu parametrii hematologici și biochimici.
- ✓ Înregistrarea variațiilor profilului hematologic și biochimic la vițeii în prima lună de viață și stabilirea situației în care utilizarea parametrilor fiziologici de la taurinele adulte este necorespunzătoare pentru viței.
- ✓ Investigarea statusului în cupru, zinc, seleniu, fier, a profilului hematologic și stabilirea corelațiilor acestora dintre vacile și vițeii lor de rasă Montbeliarde.
- ✓ Investigarea statusului în cupru, zinc, seleniu, fier, a profilului hematologic și stabilirea corelațiilor acestora dintre vacile și vițeii lor de rasă Charolaise.

Pentru realizarea studiului propus, cercetările au fost efectuate în 4 ferme de taurine din România și Franța. Cercetările paraclinice au fost efectuate în laboratoarele Clinicii de Medicală, de Fiziologie, de Fiziopatologie și Histopatologie ale Facultății de Medicină Veterinară din cadrul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iași, în laboratoarele de Chimie din cadrul Universității Alexandru Ioan Cuza Iași și în laboratorul Dorna Lactate SA Floreni din Vatra Dornei. Analizele de laborator din cadrul studiilor din fermele de taurine din Franța, au fost realizate în laboratoarele Clinicii de Patologie a bovinelor și Toxicologie a VetAgro Sup Campus Veterinaire Lyon, Franța. Aceste laboratoare, împreună cu clinicile aferente și fermele de taurine din nord-estul României și regiunile Franței, au oferit cadrul necesar împlinirii obiectivelor propuse.

În capitolul 6 s-au efectuat cercetări privind statusul în cupru și zinc în funcție de aportul acestor oligoelemente sub formă de sulfat (2 versus 8,5 ppm de cupru și 9 versus 42 ppm zinc) și corelația lor cu indicatorii de sănătate, producție și reproducție la taurinele de rasă Bălțată cu Negru Românească, pe 4 loturi a câte 10 vaci, pe o perioadă de 20 de săptămâni. Vacile din lotul Cupru au primit 2 g CuSO_4 /vacă/săptămână, cele din lotul Zinc au primit 10 g ZnSO_4 iar cele din lotul Cupru-Zinc 2 g CuSO_4 și 10 g ZnSO_4 . Din cercetările efectuate rezultă faptul că la începutul observațiilor 60 % din vacile luate în studiu erau carentate în cupru și zinc. S-a

observat că vacile ce au primit Cu și/sau Zn, au avut o greutate corporală mai mare decât a celor din lotul Martor, diferențele nefiind asigurate statistic. Scorul de reumplere a rumenului nu a prezentat modificări semnificative între prima și ultima săptămână de studiu cu excepția vacilor din lotul Cupru, unde a fost constatată o ameliorare semnificativă ($P < 0,05$) pe timpul celor 4 săptămâni de zile în care au primit masă verde. Tot în timpul perioadei de furajare cu masă verde, valorile scorului fracțiunii nedigerate din materiile fecale, la vacile din loturile ce au primit suplimente minerale au fost semnificativ statistic mai mici ($P < 0,05$) față de vacile din lotul Martor. Scorul leziunilor de la nivelul jaretului a înregistrat valori mai mari la vacile din lotul Martor, față de loturile de vaci ce au primit suplimente minerale, diferențele fiind semnificative statistic ($P < 0,05$). Aspectele histopatologice ale pielii la vacile care au prezentat acromotrichie periorbitală (ochelari) au evidențiat depigmentări ale epidermei, aglutinarea melanocitelor în derm, degenerarea foliculului pilos și melanocite slab pigmentate la nivelul tecilor foliculilor piloși. O producție de lapte semnificativ mai mare ($P < 0,05$) s-a constatat la t_2 (a 56 - a zi de studiu) și t_3 (a 84 - a zi de studiu) la vacile din lotul Zinc comparativ cu vacile din lotul Cupru. Testul Pearson a arătat o corelație pozitivă ($P < 0,01$) între Zn plasmatic și producția de lapte la vaci la t_3 dar nu s-a observat nici o corelație între Cu plasmatic și producția de lapte. Proteina și grăsimea din lapte la t_5 (a 140 - a zi de studiu) au fost mai scăzute la vacile din lotul Martor decât loturile suplimentate, dar diferențele nu au fost asigurate statistic. Testul statistic Pearson a arătat o corelație directă ($P < 0,01$) între Zn plasmatic și grăsimea din lapte dar nici o corelație cu Cu plasmatic. Pe timpul celor 20 de săptămâni de studiu, intervalul prima însămânțare artificială-însămânțare fecundantă s-a situat între 38 de zile la vacile din lotul Cupru și 66 de zile în lotul Martor. Carența în Cu nu este suficientă pentru a determina anemie microcitară și hipocromă. Valorile leucocitelor totale la cele 4 loturi de vaci s-au încadrat în limitele fiziologice cu mențiunea că numărul total al leucocitelor a fost mai mare la vacile din lotul Martor diferențele nefiind semnificative statistic ($P > 0,05$). Suplimentarea rației în cupru și zinc sub formă de sulfat, a permis o creștere a concentrațiilor acestor 2 oligoelemente în plasma sanguină. Valorile Cu plasmatic în cadrul fiecărui lot au înregistrat o evoluție semnificativă dar începând cu a doua lună de suplimentare a rației, vacile au ajuns în limitele normale ale cupremiei. Menționăm că începând cu t_4 , (a 112 - a zi de studiu) s-a observat o diferență semnificativă a cupremiei între vacile din lotul Cupru pe de o parte și vacile din loturile Martor ($P < 0,01$) și Zinc ($P < 0,05$) pe de altă parte. Pe timpul întregului studiu, a fost notat o evoluție semnificativă a Zn plasmatic în cadrul fiecărui lot ($P < 0,01$). Loturile suplimentate cu $ZnSO_4$ au ajuns în parametrii normali ai Zn plasmatic după o lună de administrare a $ZnSO_4$, pe când celelalte loturi, 2 luni mai târziu. Testul statistic Pearson nu a arătat corelații între evoluția cupremiei și a Zn plasmatic la vacile luate în studiu.

În capitolul 7 s-au efectuat cercetări privind statusul în cupru și zinc și corelația acestora cu parametrii hematologici și biochimici la vacile de rasă Holstein și Brună de Austria, aflate în gestație avansată, repartizate în 2 loturi a câte 10 vaci fiecare (lotul de vaci Holstein și lotul de vaci Brună de Austria). Din analiza rezultatelor, rezultă faptul că valorile medii ale indicilor eritrocitari au fost mai mari la vacile de rasă Brună de Austria față de cele constatate la vacile de rasă Holstein, diferențele nefiind asigurate statistic. Au fost determinate ceruloplasmina plasmatică și fosfataza alcalină serică cu scopul evaluării statusului în Cu și Zn. Testul Pearson nu a indicat corelații semnificative statistic între valorile indicilor eritrocitari și ceruloplasmina plasmatică. Valorile medii ale fosfatazei alcaline au variat nesemnificativ statistic la vacile de rasă Holstein și Brună de Austria, menținându-se în parametrii fiziologici. Testul Pearson nu a arătat corelații între evoluția fosfatazei alcaline și valorile leucogramei la vacile luate în studiu. La toate cele 20 de vaci luate în studiu, ceruloplasmina a avut valori mai mici decât limita inferioară fiziologică, indicând astfel evoluția carenței în cupru. Ceruloplasmina la vacile de rasă Brună de Austria ($54,97 \pm 15,62$ mg/L), a fost semnificativ statistic ($P < 0,05$) mai mare decât la vacile de rasă Holstein ($40,60 \pm 5,18$ mg/L). Carența în Cu la vacile de rasă Holstein și Brună de Austria, aflate în gestație avansată, nu a fost suficientă pentru a determina o anemie microcitară și hipocromă. Valorile glicemiei la ambele rase de animale s-au situat spre limita inferioară fiziologică, element ce trebuie luat în considerare în cadrul metabolismului energetic, alături de valorile β -OH-butirat și colesterolemiei. Nu s-au constatat corelații semnificative statistic între concentrația plasmatică a ceruloplasminei și fosfataza alcalină serică.

În capitolul 8 s-au efectuat cercetări privind statusul în cupru și zinc la vițeii de rasă Bălțată cu Negru Românească (BNR) și corelarea acestora cu parametrii hematologici și biochimici; indicarea situației în care utilizarea parametrilor fiziologici de la taurinele adulte este necorespunzătoare pentru viței. Observațiile au fost efectuate pe 40 de viței de rasă BNR sănătoși clinic împărțiți în 8 loturi în funcție de vârstă: lot 1 = vârsta de o zi, lot 2 = 2 zile, lot 3 = 3-6 zile, lot 4 = 8 zile, lot 5 = 11 zile, lot 6 = 16-18 zile, lot 7 = 24 zile, lot 8 = 28-29 zile. Au fost determinate ceruloplasmina plasmatică și fosfataza alcalină serică cu scopul evaluării statusului în Cu și Zn. Din cercetările efectuate rezultă faptul că indicii eritrocitari la vițeii luați în studiu au prezentat tendința la descreștere până la sfârșitul perioadei neonatale. Valorile cele mai mici ale Hb ca și ale Ht s-au observat la vițeii în vârstă de 11 zile, ceea ce coincide cu schimbarea laptelui matern cu laptele de colectură. Testul Pearson a arătat corelație pozitivă semnificativă statistic ($P = 0,001$) în evoluția ceruloplasminei pe de o parte și indicii eritrocitari pe de altă parte. Testul statistic Pearson nu a arătat nici o corelație între evoluția ceruloplasminei plasmatice și a constantelor eritrocitare. Vârsta vițeilor a avut un efect semnificativ statistic ($P < 0,05$) asupra trombocitelor; valorile cele mai mici au fost observate la vițeii în vârstă de 2 zile, iar cele mai

mari la cei de 11 respectiv 18 zile. Testul Pearson a arătat o corelație indirectă semnificativă statistic ($P = 0,04$) între evoluția ceruloplasminei și valorile medii ale trombocitelor. În perioada neonatală a vițelilor luați în studiu, prezența reticulocitelor a fost observată începând cu vârsta de o zi până la vârsta de 16-18 zile. Leucograma a pus în evidență faptul că leucocitele au fost în limitele fiziologice după ce în prima zi de viață numărul lor a fost peste limita superioară fiziologică. Vârsta vițelilor a avut un efect semnificativ statistic asupra proteinelor totale și a globulinelor; testul Pearson a arătat o corelație pozitivă semnificativă statistic ($P = 0,004$) între valorile medii ale ceruloplasminei și cele ale globulinelor totale. Pe timpul studiului, s-a observat o creștere progresivă a haptoglobinei din prima zi de viață ($0,15 \pm 0,06$ g/L) până în a 3-6-a zi ($0,29 \pm 0,07$ g/L) urmată de o descreștere până în a 28-29-a ($0,14 \pm 0,09$ g/L). Toate valorile fosfatazei alcaline de la vițelii examinați, au fost mai mici decât limita inferioară fiziologică ($24-48$ h = $440-512$ UI/L; 3 săptămâni = $247-299$ UI/L) indicând evoluția carenței în zinc. Testul Pearson nu a arătat corelații între evoluția fosfatazei alcaline și valorile leucogramei la vițelii luați în studiu. Valorile medii ale ceruloplasminei plasmatice la toate categoriile de vârstă au fost sub limita fiziologică inferioară, fapt ce indică un deficit de cupru. Valorile Fe au înregistrat o creștere începând cu vițelii în vârstă de o zi până la 29 de zile, valorile situându-se în limitele fiziologice. Nu au fost constatate corelații între evoluția ceruloplasminei și a Fe seric. Carența în cupru la cei 40 de vițeli luați în studiu, nu pare a fi suficientă pentru a determina o anemie microcitară și hipocromă. Rezultatele acestui studiu au arătat că valorile fiziologice ale profilului hematologic și biochimic de la taurinele adulte pot determina erori de diagnostic dacă sunt aplicate la vițelii în perioada neonatală.

În capitolul 9 s-au efectuat cercetări privind statusul în cupru, zinc, selenium, fier și a profilului hematologic în funcție de aportul suplimentului mineral și stabilirea corelațiilor acestora dintre vacile și vițelii lor de rasă Montbeliarde. Observațiile au fost efectuate în ferma C, din Franța pe un număr de 20 de vaci de rasă Montbeliarde împărțite în 2 loturi a câte 10 vaci (LCuZn și HCuZn), în vârstă de 4 – 6 ani, în gestație avansată, sănătoase din punct de vedere clinic. Vacile din lotul HCuZn au primit un supliment mineral polivalent timp de o lună de zile antepartum și o săptămână postpartum. Pe probe de sânge recoltate de la vaci și vițelii lor la fătare și la 8 zile de la fătare, s-au făcut determinări ale profilului hematologic, proteic și mineral (Cu, Zn, Fe, Se). În urma examenului clinic s-a constatat că: media scorului corporal a fost de 3, scorul fracțiunii nedigerate între 2-3, iar scorul consistenței materiilor fecale de 3, scoruri ideale pentru vacile de lapte. Conținutul de Cu și Zn în hrana vacilor a fost sub necesarul optim, deci vacile erau carentate în Cu și Zn. Leucograma a evidențiat aspecte în limitele fiziologice cu mențiunea unui număr mai mare de limfocite la vițelii proveniți din vaci HCuZn. La 8 zile postpartum, la vițelii din lotul HCuZn, s-a observat o creștere mai mare a parametrilor

hematologici față de cei a căror mame nu au primit suplimentul vitamino-mineral. Aceeași situație s-a observat și la vacile din lotul HCuZn comparativ cu cele din lotul LCuZn, dar nu s-au constatat corelații semnificative statistic cu rezultatele profilului hematologic de la vițeii lor. Suplimentarea rației cu zinc, cupru și seleniu la vacile din lotul HCuZn a permis o creștere a concentrațiilor plasmatice a acestor minerale, până la încadrarea în limitele fiziologice; vițeii din lotul HCuZn au înregistrat valori mai mari a concentrațiilor plasmatice în cupru, zinc, fier și seleniu comparativ cu cei din lotul LCuZn. Carența în cupru la vacile și vițeii din lotul LCuZn, nu pare a fi suficientă pentru a determina o anemie microcitară și hipocromă. Vițeii din lotul HCuZn au avut valori ale zincului plasmatic ce au variat în limitele fiziologice.

În capitolul 10 s-au efectuat cercetări privind statusul în cupru, zinc, seleniu, fier și a profilului hematologic în funcție de aportul suplimentului mineral și stabilirea corelațiilor acestora dintre vacile și vițeii lor de rasă Charolaise. Observațiile au fost efectuate în ferma D, din Franța pe un număr de 20 de vaci de rasă Charolaise împărțite în 2 loturi a câte 10 vaci (LCuZn și HCuZn), în vârstă de 4 – 6 ani, în gestație avansată, sănătoase din punct de vedere clinic. Timp de o lună antepartum și o lună postpartum, vacile din lotul HCuZn au primit săptămânal câte 50 g supliment polivalent. Pe probe de sânge recoltate de la fiecare vacă și vițelul ei, la câteva ore de la fătare, 8 zile și 30 de zile postpartum, s-au efectuat determinări morfologice și biochimice sanguine (profil hematologic, proteic și mineral). Analiza rezultatelor obținute a permis aprecierea unui scor corporal după fătare de 3,5, a unei medii de 2-3 a scorului fracțiunii nedigerate din materiile fecale, unui scor de consistență a materiilor fecale de 3, și a unui scor de reumplere a rumenului între 3 și 3,5. Valorile profilului hematologic la vacile și vițeii lor luați în studiu s-au încadrat în limitele fiziologice. Valorile hematologice cele mai mici au fost observate la vițeii proveniți din vacile din lotul LCuZn comparativ cu vițeii proveniți din vaci din lotul HCuZn. Testul statistic Pearson nu a evidențiat corelație semnificativă între vacile Charolaise și vițeii lor. La câteva ore postpartum, constantele eritrocitare derivate (VEM și HEM) au înregistrat valori mai scăzute ($P < 0,05$) la vacile și vițeii din lotul LCuZn comparativ cu lotul HCuZn, astfel că testul Pearson a arătat corelație pozitivă semnificativă statistic între vacile de rasă Charolaise și vițeii lor. Aspectul leucogramei: limfocitele, monocitele și eozinofilele au fost mai numeroase la vacile fără supliment vitamino-mineral. La viței, valoarea leucocitelor totale a fost mai mare la cei proveniți din vaci cu supliment vitamino-mineral. La această categorie de viței s-au constatat valori mai mici ale neutrofilelor, monocitelor și mai mari ale limfocitelor. Valorile medii ale proteinelor plasmatice la vaci s-au situat la limita fiziologică inferioară. La cei 20 de viței de rasă Charolaise, la câteva ore postpartum, s-a constatat o hipoproteinemie fapt ce sugerează un aport scăzut cantitativ și/sau calitativ al colostrului. Determinarea cupremiei a permis constatarea faptului că după fătare, valoarea Cu plasmatic din

ambele loturi de vaci precum și la vițeii lor a fost sub limita fiziologică cu mențiunea că valorile au fost mai mari la vacile cu supliment mineral. La 8 și 30 de zile postpartum, valoarea Cu plasmatic a rămas sub limitele fiziologice constatându-se valori mai mari la vițeii proveniți din vaci cu supliment vitamino-mineral, evoluția fiind semnificativă statistic ($P = 0,05$). Carența în cupru la vacile și vițeii din lotul LCuZn, nu pare a fi suficientă pentru a determina o anemie microcitară și hipocromă. Valorile Zn plasmatic la vacile din ambele loturi au fost sub limitele fiziologice, mai mari la vacile cu supliment mineral, diferențele fiind nesemnificative statistic. Zincul plasmatic a avut valori mai mari la vițeii proveniți din mame cu supliment vitamino-mineral. La 8 și 30 de zile valorile Zn au crescut la vacile și vițeii din lotul HCuZn, evoluția fiind semnificativă statistic ($P = 0,02$) doar la viței. Valorile Fe plasmatic la vaci imediat după fătare au fost sub limita fiziologică inferioară constatându-se valori mai mari la vacile ce au primit supliment mineral. Determinarea Se la vaci și viței a permis aprecierea carenței acestora în Se; s-au constatat valori mai mari la vițeii proveniți din vaci care au primit supliment vitamino-mineral. Suplimentarea rației cu zinc, cupru și seleniu la vacile din lotul HCuZn a permis o creștere a concentrațiilor plasmatice a acestor minerale, până la încadrarea în limitele fiziologice, cu excepția seleniului plasmatic, care s-a menținut cu mult sub limita inferioară normală; vițeii din lotul HCuZn au înregistrat o creștere mai mare a concentrațiilor plasmatice în cupru, zinc, fier și seleniu comparativ cu cei din lotul LCuZn.

Cercetările realizate deschid numeroase perspective atât la nivel practic cât și fundamental. Este oportun să se revadă aportul și evoluția și a altor antagoniști ai cuprului și zincului la vacile și vițeii de rasă BNR, Holstein, Brună de Austria, Charolaise și Montbeliarde. Analiza eficacității unui supliment în cupru și zinc sub formă organică și/sau anorganică ar putea fi efectuată prin compararea statusului sanguin și a performanțelor de sănătate, producție și reproducție, în funcție de forma mineralelor consumate de animale. Costul unei suplimentări a rației cu vitamine și minerale, poate fi rapid recuperat decât în cazul creșterii prevalenței bolilor sau apariția mortalității. Parametrii fiziologici ai oligo-elementelor ar trebui reconsiderați în funcție de rasă și performanțele animalelor, dar și în funcție de forma de minerale ingerate.