

MINISTERUL AGRICULTURII ȘI DEZVOLTĂRII RURALE

**ACADEMIA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI SILVICE
"GHEORGHE IONESCU-ȘIȘEȘTI,,**

**INSTITUTUL DE CERCETARE DEZVOLTARE PENTRU ECOLOGIE
ACVATICĂ, PESCUIT ȘI ACVACULTURĂ GALAȚI**

PROIECT SECTORIAL ADER – 15.1.1

Cercetări privind indentificarea și dezvoltarea de noi metode de profilaxie și tratament în acvacultură

FAZA 3

Demonstrarea eficienței produselor profilactice și a procedeeelor terapeutice în vederea aplicării tehnologiilor inovative de stimulare a imunității la peștele crescut în acvacultură

**Director general,
CS III dr. ing. Floricel Maricel DIMA**

**Director adjunc științific,
CS I prof.univ.dr.ing. Neculai PATRICHE**

**Director de proiect,
CS III dr. ing. Elena Eugenia MOCANU**

Obiectivul proiectului

Principalul deziderat al proiectului, care reprezintă și obiectivului general, constă în asigurarea sănătății și bunăstării viețuitoarelor acvatice, siguranței și securității alimentare prin cercetări privind identificarea și dezvoltarea de noi metode de profilaxie și tratament în acvacultură.

Obiectivul fazei 3

Demonstrarea eficienței produselor profilactice și a procedurilor terapeutice în vederea aplicării tehnologiilor inovative de stimulare a imunității la peștele crescut în acvacultură

Activitățile fazei 3

Activitatea 3.1 - Demonstrarea eficienței produselor profilactice și a procedeeelor terapeutice în vederea aplicării tehnologiilor inovative de stimulare a imunității la peștele crescut în acvacultură

CONTRACTOR:

Evaluarea produselor profilactice și eficiența tehnologiei inovative de creștere a imunității peștilor

Scopul cercetărilor este acela de a identifica soluții alternative de a stimula imunitatea peștilor în acvacultură minimizând impactul negativ cauzat de amenințările la adresa sănătății materialului biologic.

Obiective conexe necesare îndeplinirii obiectivului propus :

- Realizarea rețetelor furajere, îmbogățite cu produse profilactice;
- Evaluarea biochimică a furajelor;
- Evaluarea calității mediului acvatic;
- Evaluarea stării sanitare a materialului biologic implicat în experiment;
- Evaluarea indicatorilor de performanță tehnologică;
- Evaluarea cantității componentelor biochimice din carnea de nisetru siberian;
- Elaborarea tehnologiei inovative cadru, de obținere a nistrului siberian rezistent la boli, crescut în sistem recirculant.

Sistemul de creștere și furajele utilizate în cadrul experimentului

Schema de organizare a cercetărilor de stimulare a imunității la specia *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) crescut în sistem recirculant (RAS)

Specificație experiment	Incinte experimentale	Notăție incinte		Notăție biomasă
„Cercetări privind stimularea imunității la specia nisetru siberian (<i>Acipenser baerii</i>)”	Modul (piscină) de creștere martor	PM	Furaj standard	Lot Martor
	Modul (piscină) de creștere experimental	PExp	Furaj cu adaos de enzime și fitoaditivi	Lot experimental
	Module de carantina	-		-

Module de creștere circulare ICDEAPA Galați



Foto 14. Module de creștere circulare (PM și Pexp)



Foto 15. Modul de creștere circular
Piscina Martor (PM)



Foto 16. Modul de creștere circular
Piscină experimentală (PExp)

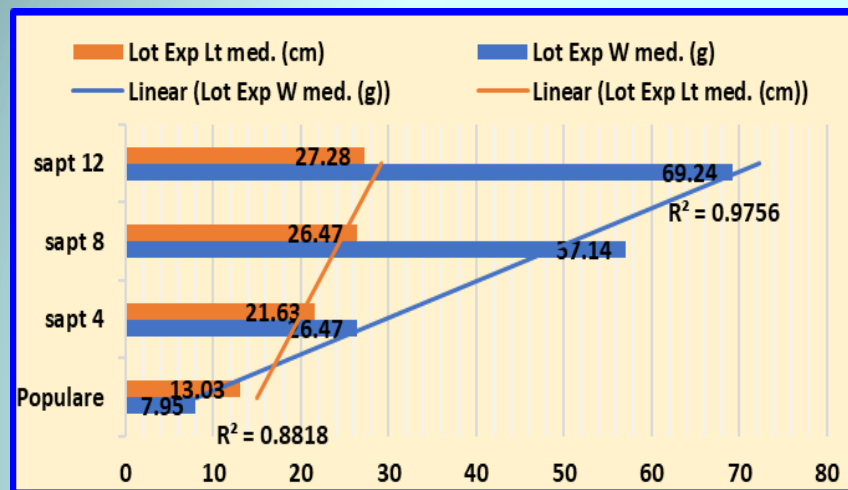
Concluzii privind dinamica parametrilor fizico-chimici ai mediului de creștere a speciei nisetru siberian pe perioada desfășurării experimentului

- Calitatea apei din sistem s-a încadrat în limitele admise și recomandate pentru apele folosite în piscicultură, situându-se în clasa a II-a și a III-a de calitate, în conformitate cu prevederile Ord. MMGA nr. 161/2006;
- Apa poate fi considerată corespunzătoare (cu mici excepții), în vederea creșterii și dezvoltării speciei luată în studiu - nisetru siberian (*Acipenser baerii*);
- Furajelor îmbunătățite cu enzime și fitoaditivi folosite în dietele de furajare a speciei nisetru siberian (*Acipenser baerii*) nu modifică calitatea mediului acvatic.

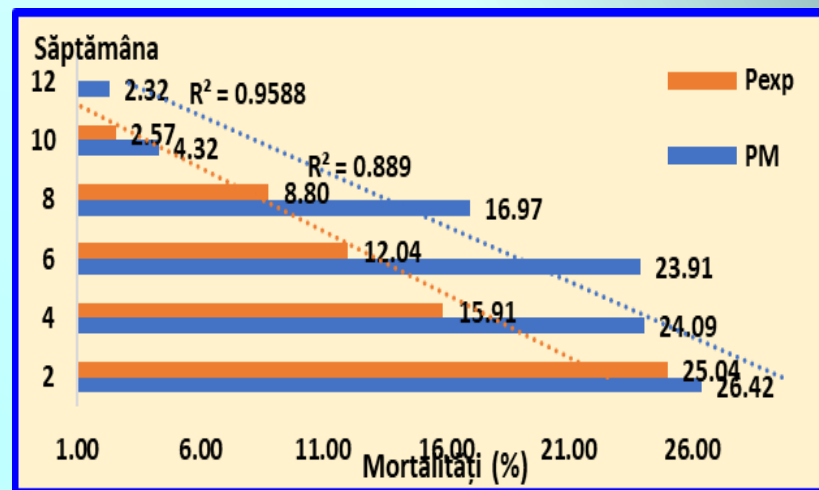
Concluzii privind influența dietelor cu enzime și fitoaditivi asupra stării de sănătate a speciei nisetru siberian crescut în sistem recirculant

- Administrarea unui complex de enzime și fitoaditivi a avut un efect biostimulator, prin menținerea indicilor eritrocitari și leucocitari în limitele fiziologice normale;
- Rezultatele acestui experiment pot fi explicate prin răspunsul adaptativ al nisetruului siberian la nutriția suplimentată cu un complex de enzime și fitoaditivi, neexistând reacții toxice;
- Adaosul unui complex de enzime și fitoaditivi influențează favorabil starea de sănătate a materialului biologic prin efectele biostimulatoare și imunomodulante ale fitoaditivilor, determinând o creștere a ratei de supraviețuire cu 16%;
- Efectul biostimulator al complexului de enzime și fitoaditivi inclus în hrana puietului de nisetru se reflectă și valorile normale ale principalilor indici biochimici ai sângelui;
- Amestecul de enzime digestive și fitoaditivi [rădăcina de ghimbir (*Zingiber officinale*), frunze de menta (*Mentha piperita*), fructe de fenicul (*Foeniculum vulgare*), fructe de anason (*Pimpinella anisum*)], pot fi folosite în dietele de furajare pentru nisetruul siberian crescut în sistem recirculant în scop biostimulator (stimulează asimilația și dezvoltarea, sporind imunitatea organismului).

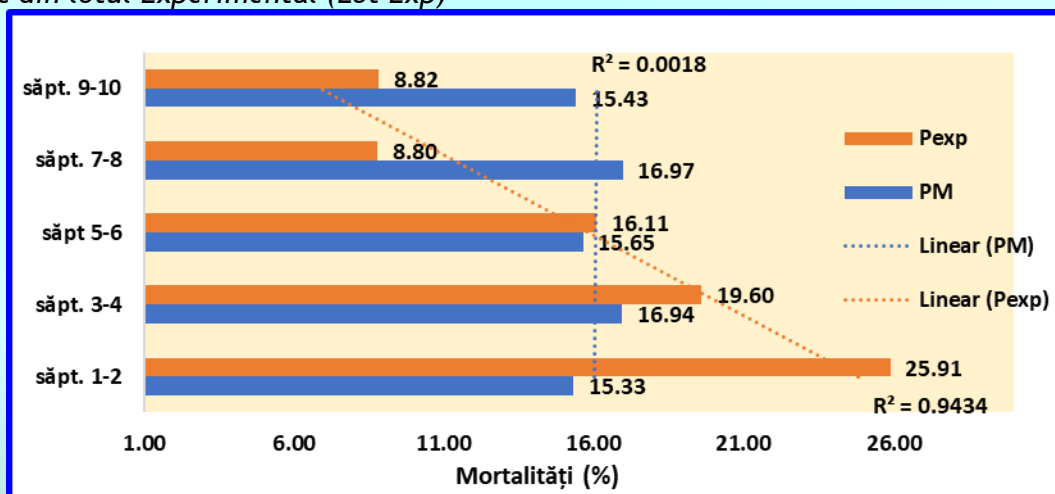
Evaluarea indicatorilor de performanță tehnologică la nisetru siberian (*Acipenser baerii*) crescut în sistem recirculant cu diete suplimentate cu enzime și fitoaditivi



Dinamica masei medii (Wmed), lungimii medii (Lmed) al materialului biologic din lotul Experimental (Lot Exp)



Rata de mortalitate pe perioada experimentală

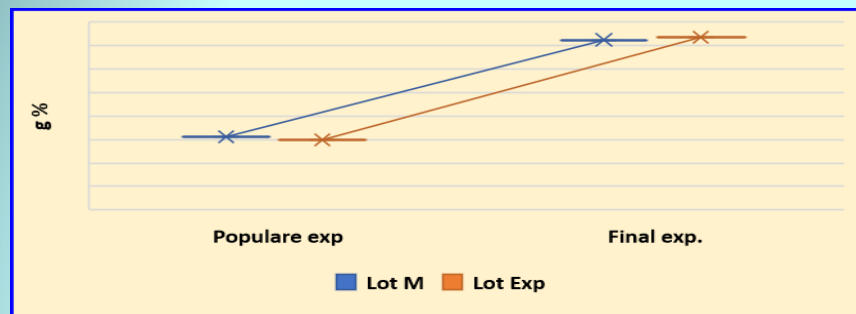


Procentul de mortalități din cele două piscine de creștere

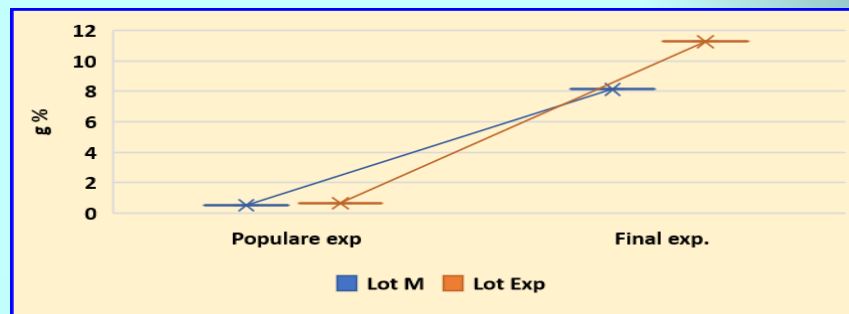
Concluzii privind influența dietelor îmbunătățite cu enzime și fitoaditivi asupra indicatorilor bioproductivi obținuți la creșterea nisetruului siberian în sistem recirculant

- **Masa corporală** a exemplarelor de nisetru siberian a înregistrat pe perioada celor 12 săptămâni, o creștere de 386% la lotul M și 771% în lotul Experimental.
- **Supraviețuirea materialului biologic** a înregistrat o valoare de 35% în lotul martor și 69% în lotul experimental hrănit cu furaj cu adaos de enzime și fitoaditivi, toate valorile situându-se în limitele normale de supraviețuire pentru puietul de nisetru siberian;
- **Sporul total de creștere** prezintă valori mai mari în lotul experimental (73,20%) comparativ cu lotul martor (12,52%) ca urmare a folosirii furajelor îmbogățite cu enzime și fitoaditivi, cu rol în stimularea creșterii materialului biologic;
- **Rata zilnică de creștere** prezintă valori mai ridicate în lotul experimental comparativ cu lotul martor, ceea ce demonstrează că furajele îmbogățite cu enzime și fitoaditivi determină creșteri în masă corporală mai rapide

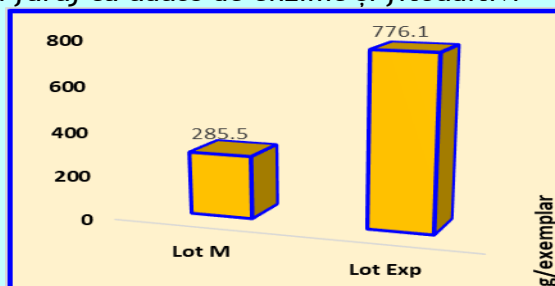
Influența dietelor îmbunătățite cu enzime și fitoaditivi asupra calității cărnii speciei nisetru siberian (*Acipenser baerii*), crescut în sistem recirculant



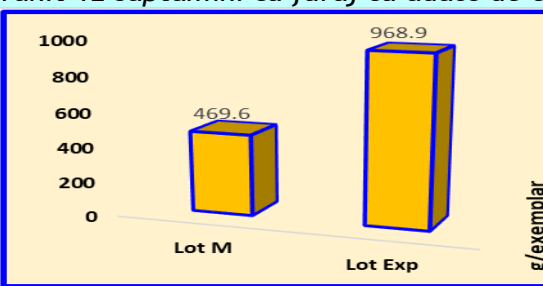
Variația concentrației de proteine la carnea de nisetru siberian hrănit 12 săptămâni cu furaj cu adaos de enzime și fitoaditivi



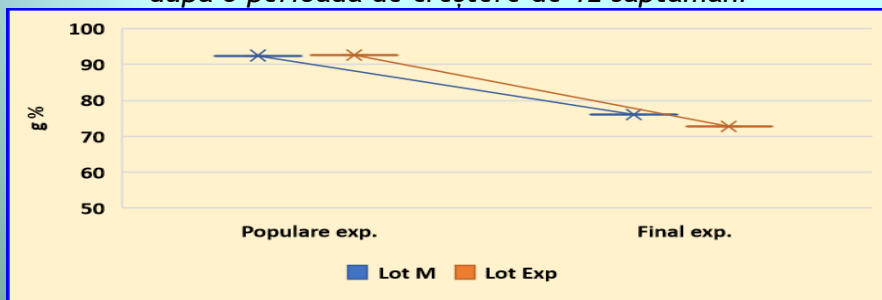
Variația concentrației de lipide totale la carnea de nisetru siberian hrănit 12 săptămâni cu furaj cu adaos de enzime și fitoaditivi



Sporul de lipide la puietul de nisetru siberian ($W_{med} = 7,64 \text{ g/ex.}$), după o perioadă de creștere de 12 săptămâni



Sporul de substanță proteică brută la puietul de nisetru siberian ($W_{med} = 7,64 \text{ g/ex.}$), după o perioadă de creștere de 12 săptămâni



Variația umidității la carnea de nisetru siberian hrănit 12 săptămâni cu furaj cu adaos de enzime și fitoaditivi



Variația raportului umiditate/proteină la carnea de nisetru siberian hrănit 12 săptămâni cu furaj cu adaos de enzime și fitoaditivi

➤ *Evaluarea compoziției în acizi grași a materialului biologic*

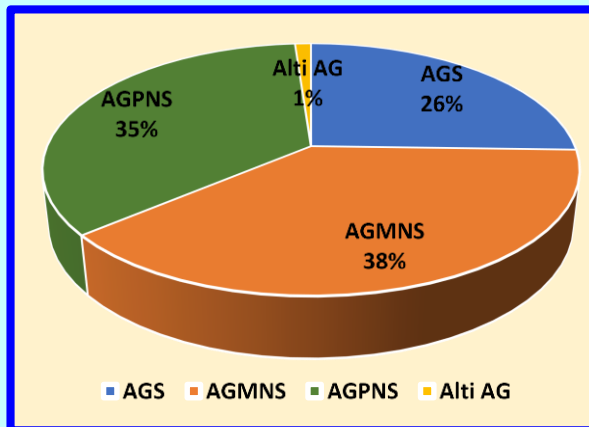


Fig. 25 - Compoziția în acizi grași în Lotul M

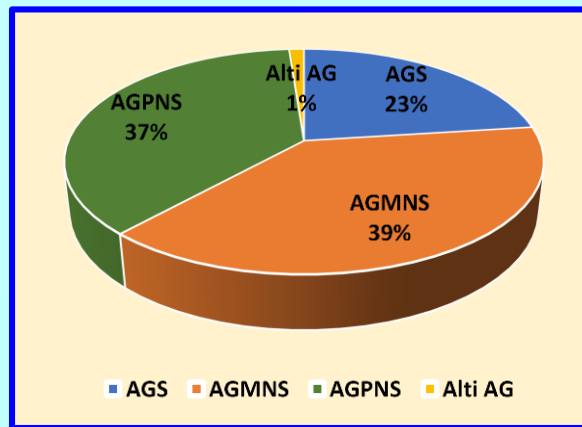


Fig. 26 - Compoziția în acizi grași în Lotul Exp

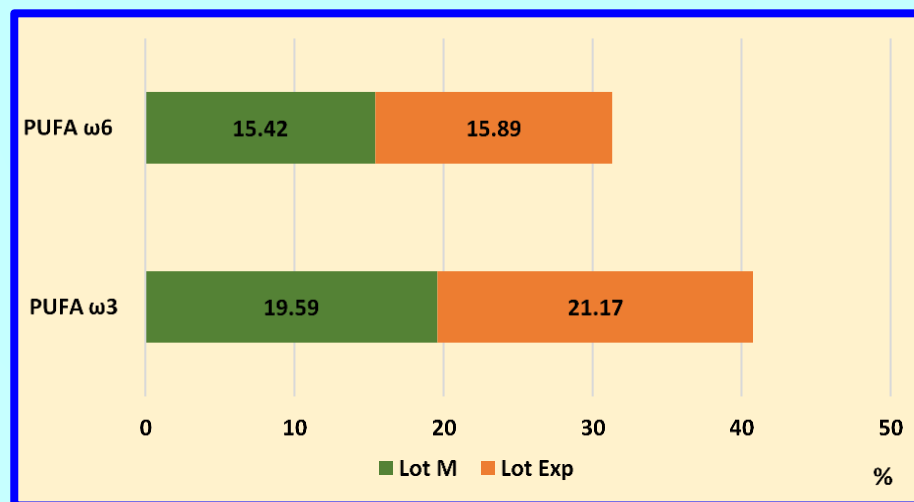


Fig. 28 - Concentrația acizilor grași polinesaturați (PUFA) de tip ω3 și ω6 la în carnea de nisetru Siberian în cele două loturi

Concluzii privind influența dietelor cu adaos de enzime și fitoaditivi asupra calității cărnii speciei nisetru siberian crescut în sistem recirculant

- Dietele îmbunătățite cu *enzime și fitoaditivi*, folosite în nutriția speciei nisetru siberian au influențat favorabil calitatea nutritivă a materialului biologic implicat în experiment, existând posibilitatea producerii de alimente funcționale.
- Dietelor îmbunătățite cu *enzime și fitoaditivi*, folosite în nutriția speciei nisetru siberian au dus la obținerea de produse sigure, care să satisfacă cerințele nutriționale ale consumatorului.
- Cele două loturi (Lot M, Lot Exp) la finalul experimentului au prezentat o stare de întreținere mai bună a materialului piscicol, reliefată de raportul U/P, comparativ cu momentul populării experimentului.
- Dietele îmbogățite cu *enzime și fitoaditivi* influențează favorabil rata de supraviețuire a speciei nisetru siberian; nu s-au înregistrat stări patologice de natură, infecto - contagioasă, specifică sau nespecifică datorată capacității de apărare mai ridicată a organismului împotriva agenților patogeni;
- Introducerea furajelor suplimentate cu *enzime și fitoaditivi* conduce la îmbogățirea cărni nisetru siberian de acvacultură cu acizi grași polinesaturați $\omega 3$ (21,17%);
- Dietele îmbunătățite cu *enzime și fitoaditivi*, asigură obținerea unor produse cu cantități și rapoarte în AGPNS până la nivelul de alimente funcționale, comparativ cu tehnologiile uzuale aplicate în RAS (sistem recirculant de acvacultură).

Partener 1

Evaluarea procedeeilor terapeutice inovative în vederea obținerii de produse sigure pentru consumatori

Stațiunea de Cercetare Dezvoltare pentru Piscicultură Nucet este principalul furnizor de material de populare pentru majoritatea fermelor piscicole din țară, datorită diversității și calității materialului biologic produs.

La SCDP Nucet sunt păstrate și reproduse circa 20 de specii de pești de apă dulce, unitatea fiind principalul deținător al genofondului de pești de cultură din România.

*În anul 2021 au continuat experimentele legate de evaluarea procedurilor terapeutice inovative pentru combaterea infestării cu *Saprolegnia* sp. Acestea au vizat verificarea eficienței formalinei 37 % (substanță antifungică clasică) și a altor substanțe chimice folosite în tratament antifungic, respectiv clorura de sodiu, violet de gențiană, bronopol. Materialul biologic a fost reprezentat de icre provenite de la următoarele specii: *Esox lucius* (știucă), *Cyprinus carpio* (crap) și *Polyodon spathula* (sturion Nord-American).*

Experimentele au început odată cu începutul campaniei de reproducere artificială a peștilor de cultură de la SCDP Nucet.

Instalații experimentale și metode de lucru

Având în vedere obiectivele lucrărilor experimentale cât și materialul biologic folosit (icre) toate experiențele au fost realizate folosind instalații industriale de reproducere și incubație, respectiv incubatoare și căzi de parcare folosite în mod curent în practica piscicolă.

*In acest an, înainte de începerea campaniei de reproducere artificială la peștii de cultură, toate instalațiile și aparatele folosite la incubație (incubatorul tip Nucet, ramele flotabile pentru icrele de știucă, bazinele betonate, căzi de parcare, conductele de alimentare cu apă, incubatoarele de plexiglas pentru *Polyodon spathula*, juvelnicele și ramele pentru crap, au fost curățate și dezinfectate cu soluție Peral-S (1 %). De asemenea, după încheierea incubației toate aceste instalații au fost curățate și dezinfectate cu soluție 1 % Peral-S. Timpul de contact de 15-30 de minute.*

Principalele substanțe active și speciile folosite în experimentele de la SCDP Nucet în prevenirea și combaterea saprolegniozei sunt prezentate în tabelul de mai jos

<i>Material biologic</i>	<i>Specia</i>	<i>Număr exemplare</i>	<i>Perioada</i>	<i>Instalație de testare</i>	<i>Substanțe testate</i>
Icre	<i>Esox lucius</i> (știuca)	42.000	Martie	Rame flotabile	Formalină 37 % Bronopol
	<i>Polyodon spathula</i>	24.000	Aprile-mai	Incubator de plexiglas	Formalină 37 % Violet de gentiana
	<i>Cyprinus carpio</i> (crap)	153.000	Mai-iunie	Incubator tip Nucet	Formalină 37 % Bronopol NaCl

Experimente realizate la icre de crap (Cyprinus carpio)

1. **Formalina 37 %** - În cadrul experimentărilor cu soluția de formalină 37 % s-au aplicat 3 - 4 băi ; concentrațiile de formalină 37 % testate au fost de 1,0, 1,67 și 2,0 ml /l; timpul de expunere 15 minute; repetarea tratamentului la intervale de 12 ore. Prima îmbăiere s-a aplicat după 24 de ore de la fecundare și s-a încheiat când în instalația de incubație au apărut primele larve.
2. **Bronopol** -Testatarea eficienței tratamentului cu bronopol s-a făcut pe o gamă largă de concentrații în intervalul de 15-300 mg/l. Timpul de expunere a fost de 10-15 minute. Condițiile de aplicare sunt aceleași ca și pentru celelalte soluții utilizate.
3. **Clorura de sodiu (NaCl)**- În cadrul experimentărilor cu clorura de sodiu au fost aplicate câte 3-4 băi pentru fiecare dintre concentrațiile testate (1,0, 2,0 și 3,0 g /l). Timpul de expunere a fost de 3-5 minute, băile fiind efectuate la intervale de 12 ore. Prima îmbăiere s-a făcut după 24 de ore de la fecundare.

Substanța - concentrația	T (°C)	Timp (zile)	Modul de aplicare	Timp exp. (minute)	Frecvența (h)	IF (%)	IS (%)	IEA (%)	IER (%)
Proba martor	18-21	4	imersie	0	0	81,33	43,33	44,33	54,66
Formalină 1,67 ml/l	18-21	4	imersie	10-15	12	81,33	16,33	70,00	86,00
NaCl 2 g/l	18-21	4	imersie	3-5	12	81,33	15,66	76,66	94,33
Bronopol 50 mg/l	18-21	4	imersie	10-15	12	81,33	15,33	77,33	94,00

Experimente realizate la icre de știucă (Esox lucius)

1. Formalina 37 %- În cadrul experimentărilor în care s-a folosit soluția de formalină 37 % concentrațiile soluției de formalină 37 % utilizate au fost de 1,0, 1,67, 2,0 și 3,0 ml /l. S-au aplicat 8-10 tratamente (îmbăieri). Timpul de expunere a fost de 15 minute cu reperare la intervale de 24 de ore. Prima îmbăiere s-a făcut după 24 de ore de la fecundare. Tratamentul cu formalină 37 % s-a încheiat la apariția primelor larve pe rame.

2. Bronopol- Testarea bronopolului s-a făcut pe o gamă largă de concentrații în intervalul 15-300 mg/l. Timpul de expunere a fost de 10-15 minute, restul condițiilor de aplicare fiind ca și pentru celelalte soluții utilizate.

Substanța - concentrația	T(°C)	Timp (zile)	Modul de aplicare	Timp expunere (min.)	Frecvența (h)	IF (%)	IS (%)	IEA (%)	IER (%)
Proba martor	9-11	8-10	-	-	-	73,33	48,33	29,00	37,31
Formalină 37 % 1,67 ml/l	9-11	8-10	Imersie	15	24	73,33	13,66	63,66	82,33
Bronopol 50 mg/l	9-11	8-10	Imersie	15	24	73,33	19,66	57,66	74,33

Experimente realizate la icre de *Polyodon spathula*

- 1. Formalina 37 %-** Soluția de formalină 37 % pentru tratamentul antifungic s-a aplicat direct în incubator. (fig.). Concentrațiile soluției de formalină 37 %, folosite în experimentări au fost de 1,0 ml/l, 1,67 ml/l, 2,0 ml/l și 3,0 ml /l. Prima aplicare a tratamentelor cu soluții de formalina 37 % la incubarea icrelor de *P. spathula* s-a făcut după 24 de ore de la fecundare. Administrarea s-a făcut la fiecare 3 ore. Timpul de expunere a fost de 3-5 minute. Tratamentul s-a încheiat la momentul apariției primelor larve în incubator.
- 2. Violet de gențiana-** Concentrațiile soluțiilor de violet de gențiana, utilizate în tratamentul antifungic al icrelor au fost de 0,25 g/l, 0,50 g/l și 1 g/l. Primul tratament cu soluția de violet de gențiana s-a făcut după 24 de ore de la fecundare, prin administrarea direct în incubatorul cu icre de *P. spathula*. Soluția s-a aplicat direct în incubator, la fiecare 3 ore. Timpul de expunere a fost stabilit la 3-5 minute.

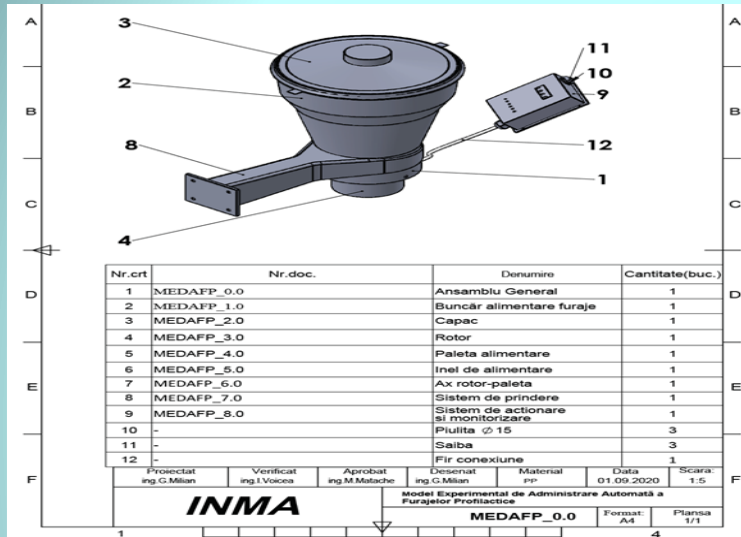
Substanța - concentrația	T (°C)	Timp (zile)	Modul de aplicare	Timp expunere (min.)	Frecvența (h)	IF (%)	IS (%)	IEA (%)	IER (%)
Probă martor	14-18	7-10	o	o	o	98,00	43,33	44,33	51,33
Formalină 37 % 1,50 ml/l	14-18	7-10	direct în incubator	3-5	la 3 ore	98,00	12,00	76,00	84,00
Violet de gențiana 0,50 mg/l	14-18	7-10		3-5	la 3 ore	98,00	14,00	86,00	94,00

Concluzii experimente

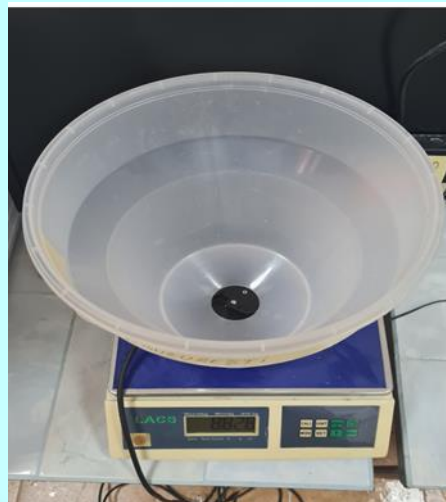
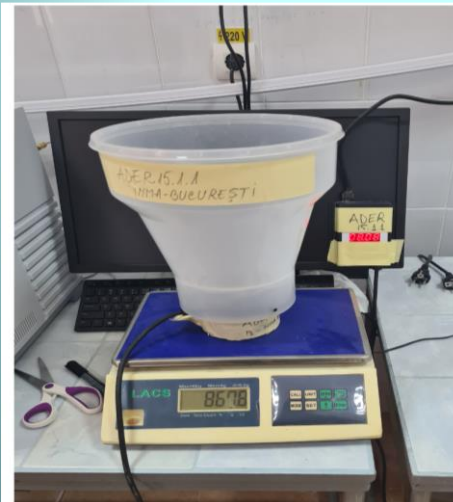
- Saprolegniaza este cel mai des întâlnită boală parazitară la peștii de cultură și probabil cel mai bine cunoscută de fermieri. În același timp, saprolegniaza este și una dintre bolile cu cel mai mare impact economic în acvacultură putând distruge efective întregi de pești sau compromite șarje mari de icre embrionate în stațiile de incubatie.
- Profilaxia și tratamentul saprolegniazei se practică încă de la începuturile acvaculturii semiintensive și intensive, respectiv, prima jumătate a secolului XX.
- Verdele de malachit și formalina 37 % au fost folosite pe scară largă și cu succes la tratarea icrelor și a peștilor bolnavi sau în scopuri profilactice. De-a lungul timpului s-a încercat utilizarea a diverse alte substanțe antifungice sau chiar a unor metode biochimice și biologice de combatere, verdele de malachit și formalina 37 % au rămas remediile consacrate până în prezent.
- Deși toxicitatea și efectele cancerigene și teratogene ale verdului de malachit și formalinei au fost documentate în urmă cu câteva zeci de ani, acvacultorii au continuat să le utilizeze, în pofida riscurilor, datorită eficacității lor antifungice.
- Formalina 37 % are și ea un efect destul de restrictiv de utilizare pentru peștii destinați consumului uman. La aceste limitări se mai adaugă și înăsprirea legislației de mediu la nivel mondial, ambele substanțe având un impact puternic asupra mediului acvatic dacă este deversat în apele naturale.
- Experimentările efectuate au reconfirmat pe de o parte eficiența dar și toxicitatea antifungicelor clasice, rezultatele obținute fiind în acord cu cele din literatură și practica piscicolă.
- Rezultatele testării bronopolului confirmă eficiența acestuia, rezultatele fiind în concordanță cu datele publicate în revistele de specialitate. Toxicitatea produsului este redusă iar în intervalul larg de concentrații activitatea antifungică nu este însoțită de efecte toxice.
- Indicele terapeutic determinat pentru bronopol este 10. Acest lucru înseamnă că produsul poate fi folosit în condiții de siguranță, pericolul supradozării fiind relativ mic. Eficiența antifungică a acestei substanțe este de necontestat. Efectele secundare sunt eliminate.

Partener 2

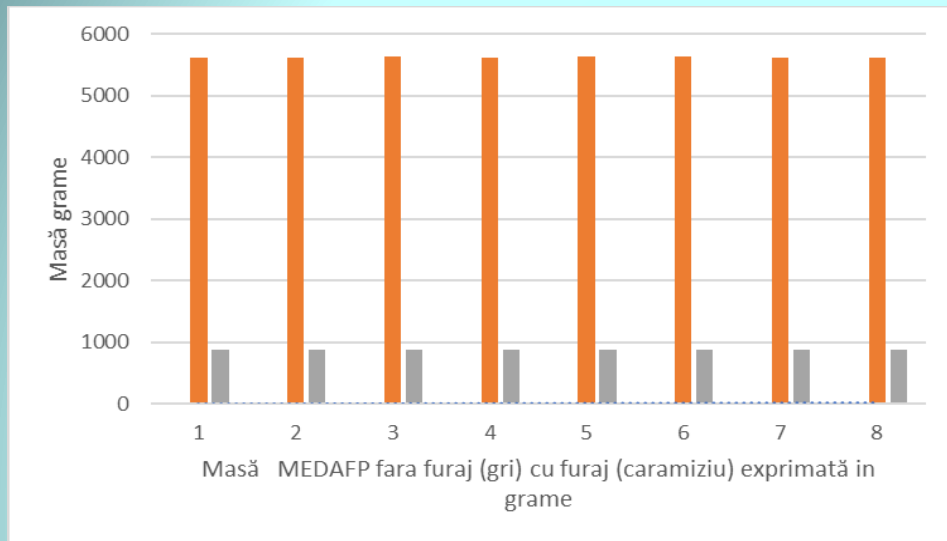
Testarea modelului experimental de administrare automată a furajelor profilactice



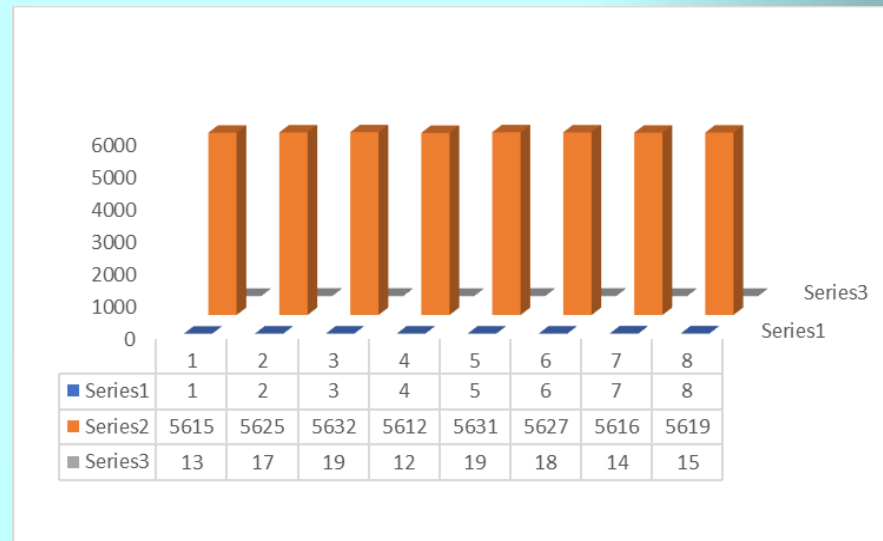
Modelul experimental de administrare automată a furajelor profilactice - MEDAFP – Ansamblu General



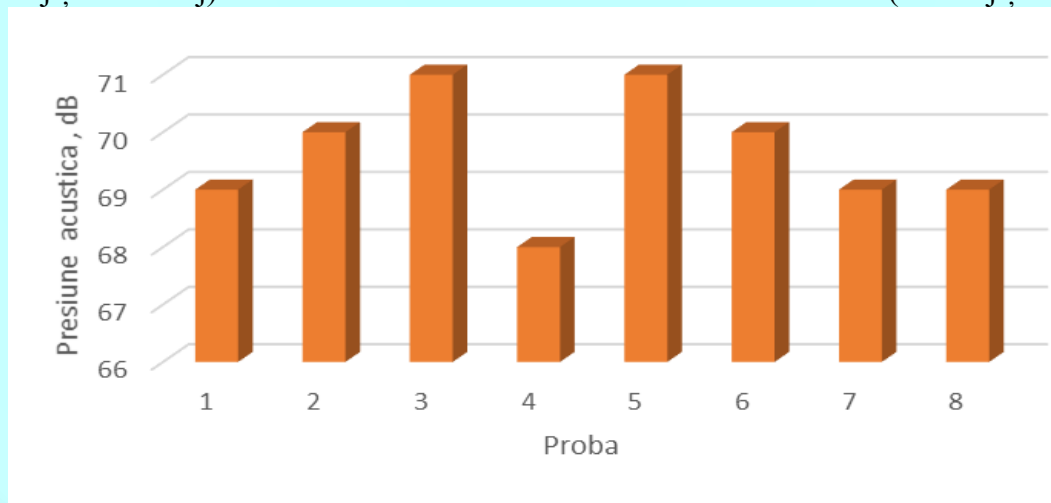
Testare model experimental de administrare automată a furajelor profilactice



Reprezentare grafica testare masica MEDAFP
(cu furaj și fără furaj)



Reprezentare grafica intensitate curent model MEDAFP
(cu furaj și fără furaj)



Nivel de zgomot (presiune acustica)

Concluzii

- *Stadiul de implementare al proiectului este în conformitate cu calendarul activităților prevăzute în propunerea de proiect la Contractul de cercetare: ADER 15.1.1 / 26.09.2019, cu titlu „Cercetari privind indentificarea si dezvoltarea de noi metode de profilaxie si tratament in acvacultura”, astfel încât realizarea fazei nr.3 - Dezvoltarea și experimentarea unor metode și produse profilactice și procedee terapeutice de intervenție în vederea aplicării unor tehnologii inovative de stimulare a imunității peștilor în acvacultură, nu a necesitat modificări, activitatea fiind realizată conform planificării, realizându-se în totalitate obiectivele propuse.*
- *Se propune continuarea finanțării având în vedere importanța temei la nivelul sectorului de acvacultură din România, prin implementarea unor produse profilactice și procedee terapeutice de intervenție în vederea stimulării imunității peștilor în acvacultură.*