

UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI

Școala doctorală de Inginerie Mecanică și Industrială



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

**Compuși vegetali biologic activi și
probiotice cu beneficii pentru bunăstarea
animală în sistemele recirculante de
acvacultură industrială**

Doctorand,

Ing. Viorica PRODAN (SAVIN)

Conducător științific,

Prof. univ. emerit. dr. ing. Victor CRISTEA

Membru corespondent al Academiei de Științe Agricole și Silvicultură "Gheorghe Ionescu-Șișești"

Seria I 4: Inginerie industrială Nr. 104

GALAȚI

2026

UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI

Școala doctorală de Inginerie Mecanică și Industrială



TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

Compuși vegetali biologic activi și probiotice cu beneficii pentru bunăstarea animală în sistemele recirculante de acvacultură industrială

Doctorand,

Ing. Viorica PRODAN (SAVIN)

Președinte:

Prof. univ. dr. ing. MORARU Luminița

Director al Școlii doctorale de Inginerie mecanică și industrială,
Universitatea “Dunărea de Jos” din Galați

Conducător de doctorat:

Prof. univ. emerit. dr. ing. CRISTEA Victor

Universitatea “Dunărea de Jos” din Galați
Membru corespondent al Academiei de Științe Agricole și Silvicultură
„Gheorghe Ionescu-Șișești”

Referenți oficiali:

Cercet. șt. gr. I dr. ing. COSTACHE Mioara

Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Piscicultură, Nucet,
Dâmbovița

Cercet. șt. gr. II conf. univ. dr. ing. DIMA Floricel-Maricel

Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit
și Acvacultură, Galați

Conf. univ. dr. ing. FLOREA Luiza

Universitatea “Dunărea de Jos” din Galați

Seria I 4: Inginerie industrială Nr. 104

GALAȚI

2026

MULȚUMIRI

Doresc să îmi exprim recunoștința față de toți cei care m-au susținut și m-au ghidat pe parcursul acestui drum.

Mulțumesc cu profundă recunoștință conducătorului științific al acestei teze de doctorat, **domnului profesor univ. Emerit Dr. Ing. Victor Cristea**, pentru ajutorul oferit necondiționat și pentru faptul că m-a susținut cu profesionalism și răbdare până la finalizarea acestei teze. Prin îndrumarea valoroasă a domniei sale, am fost încurajată să depășesc toate obstacolele și să-mi duc la bun sfârșit această cercetare. Dedicarea și implicarea domniei sale reprezintă o parte esențială a realizării prezentei cercetări.

Mulțumiri sincere adresez și primului meu conducător științific, **domnul profesor univ. dr. ing. Neculai Patriche**, membru corespondent al Academiei de Științe Agricole și Silvicultură, pentru susținerea acordată în etapele inițiale ale acestei cercetări. În acea perioadă esențială, domnia sa mi-a oferit o bază solidă și direcția necesară pentru dezvoltarea proiectului doctoral, construind astfel temelia pe care s-a bazat întreaga muncă de până acum. Aprecieri mea profundă pentru disponibilitatea și expertiza domniei sale rămâne o parte importantă a parcursului meu academic și profesional.

Exprim recunoștința mea referenților științifici ai acestei teze de doctorat: **doamnei prof. univ. dr. ing. Luminița MORARU**, director al Școlii doctorale de Inginerie mecanică și industrială din cadrul Universității "Dunărea de Jos" din Galați, **doamnei CS I dr. ing. Mioara COSTACHE**, directorul Stațiunii de Cercetare-Dezvoltare pentru Piscicultură, Nuce, **domnului CS II conf. univ. dr. ing. Floricel-Maricel DIMA**, director al Institutului de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură, Galați și **doamnei conf. univ. dr. ing. Luiza FLOREA** din cadrul Universității "Dunărea de Jos" din Galați, pentru disponibilitatea și generozitatea de care au dat dovadă în evaluarea acestei lucrări.

De asemenea, doresc să le mulțumesc sincer membrilor comisiei de îndrumare, **domnului prof. univ. dr. ing. Neculai Patriche**, **doamnei Șef lucrări dr. ing. Ira Adeline Simionov**, **domnului Șef lucrări dr. ing. ec. Ștefan Mihai Petrea** și **doamnei dr. ing. Alina Antache** pentru feedback-ul constructiv și implicarea activă în procesul de cercetare.

Doresc să îi adresez mulțumiri domnului director general al Institutului de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură Galați, **dl. CS II conf. univ. dr. ing. Floricel Maricel Dima**, pentru sprijinul logistic și administrativ acordat în realizarea acestei lucrări.

Un gând special de recunoștință adresez doamnei **CS III dr. ing. Elena Mocanu**, care m-a încurajat să urmez acest drum, oferindu-mi nu doar încredere, ci și sprijinul și cunoștințele prețioase, care au fost esențiale în formarea mea pe parcursul acestui proiect.

Mulțumesc tuturor **colegilor** din cadrul **Institutului de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură**, Galați, pentru colaborarea strânsă și pentru atmosfera de lucru plăcută și stimulativă pe care au creat-o. Fiecare dintre ei a contribuit semnificativ la succesul acestei lucrări.

Calde mulțumiri le adresez colegilor de la Catedra de Pescuit și Acvacultură din cadrul Universității „**Dunărea de Jos**” din Galați pentru colaborare și sprijinul acordat de-a lungul studiilor doctorale.

În mod special, mulțumesc soțului, **Cristi** și fiului meu, **Alex**, pentru răbdarea, iubirea și înțelegerea de care au dat dovadă pe tot parcursul acestei perioade, precum și **părinților** mei, pentru sprijinul moral necondiționat. Sprijinul lor a fost fundamental și fără ei nu aș fi reușit să finalizez această lucrare.

Vă mulțumesc tuturor!

Drd. ing. Viorica PRODAN (SAVIN)

Cuprins

	Pagina
Mulțumiri	i
Cuprins	iii
Introducere	iv
Structura tezei de doctorat	v
STUDIU DOCUMENTAR	
Capitolul I - Analiza situației actuale privind utilizarea compușilor bioactivi vegetali și a probioticelor în acvacultură	1
Capitolul II - Management tehnologic și operațional în sistemele recirculante de acvacultură industrială	5
ACTIVITATEA EXPERIMENTALĂ	
Capitolul III - Evaluarea performanței de creștere și bunăstării speciei <i>Cyprinus carpio</i>, Linnaeus 1758, în sistem recirculant de acvacultură industrială, în condițiile aditivării hranei cu probiotice	8
III.1. Introducere	8
III.2. Materiale și metode de lucru	8
III.3. Rezultate și discuții	12
III.4. Concluzii	17
Capitolul IV - Evaluarea performanței de creștere și stării de sănătate a speciei <i>Cyprinus carpio</i>, Linnaeus 1758 în sistem recirculant de acvacultură industrială, în condițiile aditivării hranei cu compuși vegetali bioactivi	18
IV.1. Introducere	18
IV.2. Materiale și metode de lucru	18
IV.3. Rezultate și discuții	21
IV.4. Concluzii	25
Capitolul V – Influența unei diete îmbogățite cu probiotice asupra performanței de creștere și bunăstării speciei <i>Acipenser baerii</i>, Brandt, 1869 în sistem recirculant de acvacultură industrială	26
V.1. Introducere	26
V.2. Materiale și metode de lucru	26
V.3. Rezultate și discuții	30
V.4. Concluzii	35
Capitolul VI - Cercetări privind rolul compușilor bioactivi din <i>Glycyrrhiza glabra</i> și <i>Echinacea purpurea</i> în optimizarea creșterii și sănătății crapului (<i>Cyprinus carpio</i>, Linnaeus 1758) în sistem recirculant de acvacultură industrială	36
VI.1. Introducere	36
VI.2. Materiale și metode de lucru	36
VI.3. Rezultate și discuții	40
VI.3. Concluzii	49
Capitolul VII - Concluzii generale, contribuții proprii și perspective de cercetare	20
Bibliografie selectivă.....	53

INTRODUCERE

În contextul actual al acvaculturii, utilizarea resurselor vegetale bogate în compuși bioactivi și a probioticelor ca aditivi în hrana peștilor reprezintă o alternativă sustenabilă și eficientă pentru stimularea creșterii, îmbunătățirea imunității și reducerea utilizării antibioticelor.

Importanța și relevanța practică a lucrării

Teza de doctorat intitulată „*Compuși vegetali biologic activi și probiotice cu beneficii pentru bunăstarea animală în sistemele recirculante de acvacultură industrială*” aduce o contribuție importantă la identificarea de alternative naturale pentru îmbunătățirea stării de sănătate a organismelor acvatice, precum peștii, reducerea dependenței de antibiotice și eficientizarea producției. Această lucrare contribuie la îmbunătățirea practicilor de acvacultură și răspunde cerințelor pieței pentru produse piscicole sigure și mai sănătoase, concomitent cu creșterea conștientizării consumatorilor cu privire la importanța sănătății animalelor.

Obiectivul general al cercetărilor științifice realizate în această teză de doctorat a fost reprezentat de evaluarea efectelor compușilor bioactivi din plante și ale probioticelor asupra performanței de creștere, bunăstării și calității nutritive a două specii de pești (crap *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758 și nisetru siberian – *Acipenser baerii*, Brandt 1869), crescute în sistem recirculant de acvacultură.

În vederea îndeplinirii obiectivului general al tezei de doctorat a fost necesară realizarea următoarelor **obiective specifice**:

- evaluarea performanței de creștere a puietului de crap ca urmare a suplimentării dietei cu probiotice;
- evaluarea stării de sănătate a puietului de crap după suplimentarea dietei cu probiotice
- evaluarea calității cărnii de pește (puiet de crap - *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) în condițiile suplimentării dietei cu probiotice;
- evaluarea performanței de creștere a puietului de crap în condițiile suplimentării dietei cu compuși bioactivi din lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), echinacea (*Echinacea purpurea*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*);
- evaluarea stării de sănătate a puietului de crap în condițiile suplimentării dietei cu lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), echinacea (*Echinacea purpurea*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*);
- evaluarea calității cărnii de pește (puiet de crap - *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) în condițiile suplimentării dietei cu lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), echinacea (*Echinacea purpurea*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*);
- evaluarea influenței dietei aditivate cu probiotice asupra creșterii speciei *Acipenser baerii*, Brandt 1869;
- evaluarea influenței dietei aditivate cu probiotice asupra bunăstării speciei *Acipenser baerii*, Brandt 1869;
- evaluarea influenței dietei aditivate cu probiotice asupra calității cărnii speciei *Acipenser baerii*, Brandt 1869;
- evaluarea influenței diferitelor concentrații de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și echinacea (*Echinacea purpurea*) asupra performanței de creștere a puietului de crap, *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758;
- evaluarea stării de sănătate a puietului de crap, *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758 în urma suplimentării dietei cu diferite concentrații de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și

echinacea (*Echinacea purpurea*), analizând profilul hematologic, biochimic seric și nivelul de stres oxidativ;

- ↪ evaluarea influenței diferitelor concentrații de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și echinacea (*Echinacea purpurea*) asupra calității cărnii puietului de crap, *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758.

Structura tezei de doctorat

Scopul cercetărilor din cadrul acestei teze de doctorat a fost evaluarea efectelor unor aditivi naturali, precum probioticele și compușii bioactivi vegetali, asupra creșterii și stării de sănătate la două specii de pești: crapul comun (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758) și nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869).

Această teză de doctorat cuprinde 191 de pagini și este elaborată în două secțiuni:

≈ **Analiza datelor din literatura de specialitate**, ce conține 33 de pagini, alcătuită din două capitole, care oferă o sinteză a literaturii de specialitate recente, privind fitocompușii și probioticele utilizate în nutriția peștilor, evidențiind rolul acestora la îmbunătățirea performanței de creștere și a sănătății. De asemenea, este prezentat cadrul tehnologic și operațional al sistemelor recirculante de acvacultură, cu accent pe aspecte legate de gestionarea apei, monitorizarea parametrilor de mediu și biosecuritate.

≈ **Analiza experimentală**, care conține 158 de pagini, în care sunt prezentate rezultatele cercetărilor științifice desfășurate pe perioada doctorală. Partea experimentală cuprinde 4 capitole, și anume

✓ Capitolul III, denumit "Evaluarea performanței de creștere și a bunăstării speciei *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758, în sistem recirculant de acvacultură industrială, în condițiile aditivării hranei cu probiotice" prezintă rezultatele obținute în urma suplimentării dietei puietului de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) cu diferite concentrații ale unui probiotic comercial, denumit Probiotic Complex (PC), alcătuit dintr-un amestec de tulpini bacteriene, evidențiind efectele acestuia asupra calității apei, performanței de creștere și stării de sănătate a peștilor.

✓ Capitolul IV, intitulat „Evaluarea performanței de creștere și stării de sănătate a speciei *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758 în sistem recirculant de acvacultură industrială, în condițiile aditivării hranei cu compuși vegetali bioactivi”, prezintă rezultatele obținute în urma suplimentării dietei puietului de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) cu compuși bioactivi din lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), echinacea (*Echinacea purpurea*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*). Cercetarea analizează efectul acestor specii fitoterapeutice bogate în compuși bioactivi asupra performanței de creștere, calității apei și stării de sănătate a crapului.

✓ Capitolul V, intitulat „Influența unei diete îmbogățite cu probiotice asupra performanței de creștere și bunăstării speciei *Acipenser baerii*, Brandt, 1869 în sistem recirculant de acvacultură”, a investigat efectele aditivării dietei nisetru siberian cu diferite concentrații de Probiotic Complex asupra eficienței de creștere și bunăstării speciei.

✓ Capitolul VI, denumit „Cercetări privind rolul compușilor bioactivi din *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea* în optimizarea creșterii și sănătății crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) în sistem recirculant de acvacultură industrială”, în care au fost utilizați fitocompușii cu eficiență demonstrată în capitolul IV, testând însă concentrații diferențiate, pentru a evalua răspunsul în funcție de doza administrată.

STUDIU DOCUMENTAR

CAPITOLUL I - Analiza situației actuale privind utilizarea compușilor bioactivi vegetali și a probioticelor în acvacultură

În ultimele decenii, acvacultura a devenit sectorul agroalimentar cu cea mai rapidă creștere, dar dezvoltarea sa trebuie să fie sustenabilă și să protejeze ecosistemele. Deși producția globală de pește a atins 178 de milioane de tone în 2020 (tabelul 1), consumul pe cap de locuitor și utilizarea peștelui variază. În UE, producția și consumul au scăzut ușor, iar în România nivelul consumului rămâne sub media europeană. Creșterea intensivă a peștilor implică riscuri legate de stres și boli, ceea ce a dus la utilizarea antibioticelor – însă acestea prezintă riscuri pentru sănătatea umană. Ca alternativă, se promovează utilizarea compușilor bioactivi din plante și a probioticelor, care susțin sănătatea peștilor și reduc impactul asupra mediului.

Tabelul nr. 1. Producția din pescuit și acvacultură, în lume (FAO, 2022)

Producție (mil. tone)	Anii	Anii	Anii	2018	2019	2020
	(media anuală)					
Captură						
Continentală	7,1	9,3	11,3	12,0	12,1	11,5
Marină	81,9	81,6	79,8	84,5	80,1	78,8
Total captură	88,9	90,9	91,0	96,5	92,2	90,3
Acvacultură						
Continentală	12,6	25,6	44,7	51,6	53,3	54,4
Marină	9,2	17,9	26,8	30,9	31,9	33,1
Total acvacultură	21,8	43,4	71,5	82,5	85,2	87,5
Total pescuit și acvacultură	110,7	134,3	162,6	178,9	177,4	177,8
Utilizare						
Consum uman	81,6	109,3	143,2	156,8	158,1	157,4
Non-food	29,1	25,0	19,3	22,2	19,3	20,4
Populație (milioane) ³	5,7	6,5	7,3	7,6	7,7	7,8
Consum aparent pe cap de locuitor (kg)	14,3	16,8	19,5	20,5	20,5	20,2

I.1. Generalități privind compușii bioactivi vegetali

Compușii bioactivi sunt numiți și fitocompuși, deoarece, în cea mai mare parte a lor, sunt de origine vegetală (Biesalski et al., 2009). Sunt considerați de către cercetători ca fiind o alternativă interesantă în prevenirea și tratarea stărilor patologice, atât la om, cât și la animale (Cazarin et al., 2022). Deși nu sunt nutrienți esențiali pentru supraviețuirea unui organism, compușii bioactivi ajută la prevenirea bolilor, fiind capabili să moduleze activitățile biologice (Liu, 2013).

Fitocompușii (metaboliți vegetali secundari – flavonoide, tanini, alcaloizi etc.) acționează ca antioxidanți, antiinflamatori și antimicrobieni, oferind o alternativă naturală și eficientă la substanțele chimice în prevenirea și tratamentul bolilor în acvacultură (și nu numai).

I.2. Beneficiile potențiale ale compușilor bioactivi vegetali în acvacultură

Mai multe studii au demonstrat efectele benefice ale compușilor bioactivi vegetali, de tip antimicrobian, antifungic, antioxidant sau antiproliferativ.

Introducerea compușilor vegetali cu activitate biologică ridicată în acvacultură poate fi realizată atât în scop profilactic sau curativ, datorită proprietăților antimicrobiene, cât și în scop biostimulator. Utilizarea acestora în scop biostimulator are în vedere următoarele efecte benefice: îmbunătățirea digestiei și a valorificării hranei, creșterea imunității, stimularea consumului de hrană, stimularea creșterii.

Schematic, relația dintre utilizarea unor materii prime vegetale bogate în compuși bioactivi și potențialul lor de a susține sănătatea prin mecanisme imunologice și de creștere, este prezentată în figura 1.3.

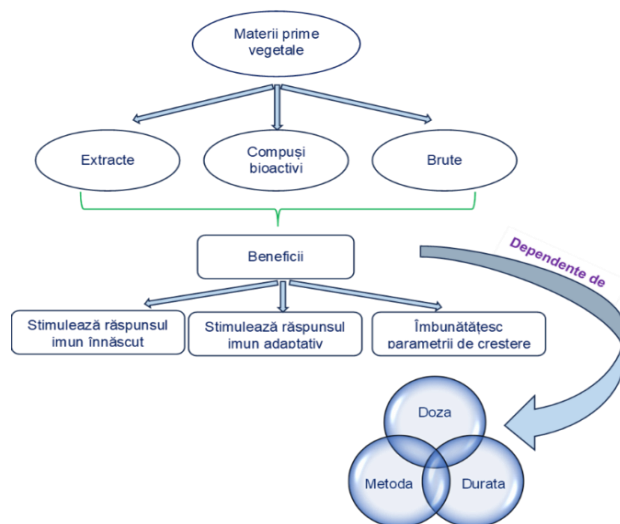


Figura 1.3. Beneficiile materiilor prime vegetale în acvacultură (Awad & Awaad, 2017)

Unii dintre acești compuși au acțiuni bactericide și imunostimulatoare și susțin îmbunătățirea productivității în acvacultură. Extractele din plante sunt folosite în întreaga lume atât profilactic, cât și pentru tratarea stărilor patologice la om, dar și la animale. Unele specii de plante, cum ar fi turmericul, ghimbirul și ceapa, sunt utilizate pe scară largă, fiind indicate deoarece conțin componente active care pot îmbunătăți gustul alimentelor, pot menține sănătatea și pot crește rezistența organismului. Principalele beneficii ale compușilor bioactivi din plante sunt: stimularea apetitului și îmbunătățirea performanței de creștere (Abidin et al., 2022), stimularea imunității (Mansour et al., 2022), reducerea stresului oxidativ (Catap et al., 2015), au rol antibacterian, antimicrobian, antiparazitar (Wu et al., 2011).

I.2.1. Îmbunătățirea performanței de creștere

Efectul plantelor aromatice au fost studiate la creșterea diferitelor specii de pești, dovedindu-se proprietăți deosebite ale acestora, care constituie baza bunăstării și care promovează sănătatea animalelor acvatice (Reverter et al., 2021). Performanța de creștere este bioindicatorul cel mai des utilizat pentru a determina un management adecvat al sistemului de creștere și al producției, dar care poate fi afectat de diferiți factori precum: *nutriția*, *mediul de creștere*, *agenții patogeni* sau *manipularea*. Extractele din plante bogate în polifenoli au un potențial ridicat de a spori performanța de creștere și eficiența utilizării furajelor la peștii de acvacultură (Rashidian et al., 2021).

Literatura de specialitate analizată a indicat faptul că suplimentarea dietei peștilor cu diverși compuși bioactivi naturali (polifenoli, flavonoide, taninuri, saponine, carvacrol,

cinnamaldehydă, quercitină, astaxantină etc.) îmbunătățește semnificativ performanța de creștere, conversia hranei, supraviețuirea și calitatea cărnii la mai multe specii: crap, păstrăv, curcubeu, caras, coșă, morun și halibut.

I.2.2. Stimularea imunității

Anumite extracte vegetale au demonstrat că pot stimula sistemul imunitar al peștilor și crustaceelor, crescând rezistența acestora la patogeni. Stimularea imunității unui organism este un fenomen prin care răspunsul imun al acelui organism este "programat" să răspundă atunci când o substanță străină, nedorită, pătrunde în corp (Taştan & Salem, 2021).

La pești, sistemul imunitar poate fi înăscut sau adaptativ (figura 1.4). Sistemul imunitar înăscut cuprinde bariere fizice, precum pielea, mucusul, branhiile, interferoni, anticorpi naturali, inhibitori de protează, dar și celule: monocite și neutrofile. Sistemul imunitar adaptativ este format din organe precum rinichii, timusul și splina. Molecule precum imunoglobulinele și celulele de tipul limfocitelor B și T sunt implicate în imunitatea adaptativă.

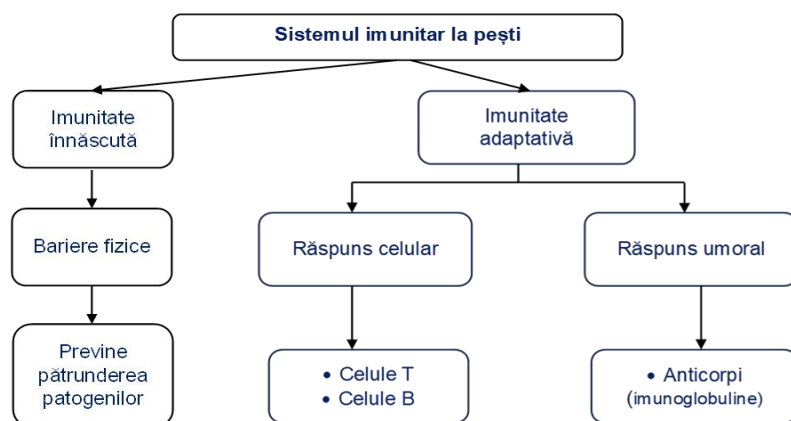


Figura 1.4. Sistemul imunitar la pești (Biller-Takahashi & Urbinati, 2014)

Numeroase cercetări au demonstrat efectul benefic în stimularea imunității al compușilor fitochimici, care sunt considerați siguri pentru mediu, organismul uman și al altor animale, printre care și peștii (Chakraborty & Hancz, 2011). În general, fitobioticele, prin compuși bioactivi conținuți, au un rol important în activarea, în organism, a genelor legate de imunitate, pentru a îmbunătăți sistemul imunitar al peștilor (Kari et al., 2022).

I.2.3. Reducerea stresului oxidativ

În acvacultură, factorul de stres poate fi datorat condițiilor de mediu sau metodelor/procedeele utilizate în diferite etape ale producției (transport, stocare) și poate fi redus la minimum printr-un management adecvat al tehnologiei de creștere. Radicalii liberi atacă lipidele nesaturate din organism, determinând peroxidarea acestora și formarea de produși de oxidare a lipidelor. Printre aceștia se numără malondialdehida, un compus cu efecte toxice, care provoacă leziuni oxidative ale celulelor și țesuturilor (Pickering, 1993). Aceste efecte pot fi combătute cu ajutorul antioxidantilor, care sunt capabili să reducă daunele provocate de radicalii liberi (Kumar et al., 2018) (figura 1.5).

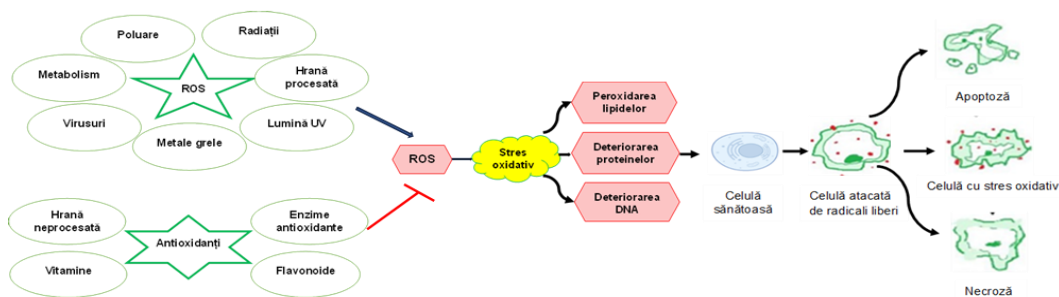


Figura 1.5. Legătura dintre ROS și stresul oxidativ, precum și efectele acestuia asupra organismului (Sharifi-Rad et al., 2020)

Pentru a contracara efectele dăunătoare ale acțiunii radicalilor liberi pot fi utilizați diferiți antioxidanți, printre care și compușii bioactivi vegetali.

I.2.4. Activitatea antimicrobiană, antibacteriană și antiparazitară

În literatura de specialitate se evidențiază activitatea antimicrobiană puternică a anumitor plante împotriva bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative. Diferite studii au indicat prezența carvacrolului în mucusul peștelui, acest lucru explicând efectele antimicrobiene observate la pești (Mizuno et al., 2018). Unul dintre biocompușii cu o puternică activitate antibacteriană este kampferolul. Extras din paltinul occidental (*Platanus occidentalis*), acesta a avut o eficacitate antibacteriană ridicată împotriva bacteriilor *Staphylococcus aureus* și *Streptococcus iniae* (Schrader et al., 2015). Există studii despre folosirea fitocompușilor în tratamentul unor afecțiuni parazitare, cum ar fi micoboliza, trichodinioza, girodactiloza la peștii de acvacultură. Menținerea sănătății animalelor este necesară pentru a obține produse de calitate, iar folosirea imunostimulatorilor ca aditivi funcționali este recunoscută ca metodă de îmbunătățire a mecanismelor de apărare nespecifice la pești, conferind rezistență la infecții.

I.3. Generalități privind probioticele

În acvacultură, pentru a obține producții mari, se folosesc densități ridicate de creștere a materialului biologic și se practică aditivarea hranei comerciale a peștilor cu diferiți promotori de creștere și, uneori, chiar cu antibiotice. Utilizarea microorganismelor probiotice ca înlocuitor al antibioticelor se folosește din ce în ce mai des în ultimii ani în fermele de acvacultură intensivă pentru a controla agenții patogeni.

Alegerea tulpinilor de probiotice este importantă, iar acestea trebuie să fie rezistente la factorii de stres de mediu, sărurile biliare și acidul gastric pentru a supraviețui trecerii prin tractul digestiv (Amenyogbe et al., 2021).

I.4. Oportunitatea utilizării probioticelor în acvacultură și rolul lor

Utilizarea probioticelor reprezintă o oportunitate pentru o acvacultură durabilă, care oferă soluții sustenabile pentru îmbunătățirea sănătății și productivității viețuitoarelor acvatice. Utilizarea acestora în fermele de piscicole reprezintă o alternativă sigură și neconvențională pentru antibiotice și alți promotori de creștere, având capacitatea de a îmbunătăți creșterea, eficiența nutrițională și starea generală de sănătate a viețuitoarelor acvatice (Van Doan et al., 2017).

Multe studii realizate au demonstrat efectul pozitiv al probioticelor privind îmbunătățirea utilizării furajelor și, implicit, creșterea lor în greutate (Mohapatra et al., 2012), creșterea rezistenței animalelor la stres (Rollo et al., 2006), creșterea calității mediului acvatic (Zink et al., 2011) sau creșterea imunității (Nayak, 2010).

I.5. Modul de administrare al probioticelor

Administrarea probioticelor în acvacultură se poate realiza pe diferite căi: prin injecție directă, prin adăugare în mediul acvatic în care trăiesc peștii, prin introducerea în hrana vie cu care urmează să fie alimentate larvele sau prin introducerea în furaj (figura 1.6).

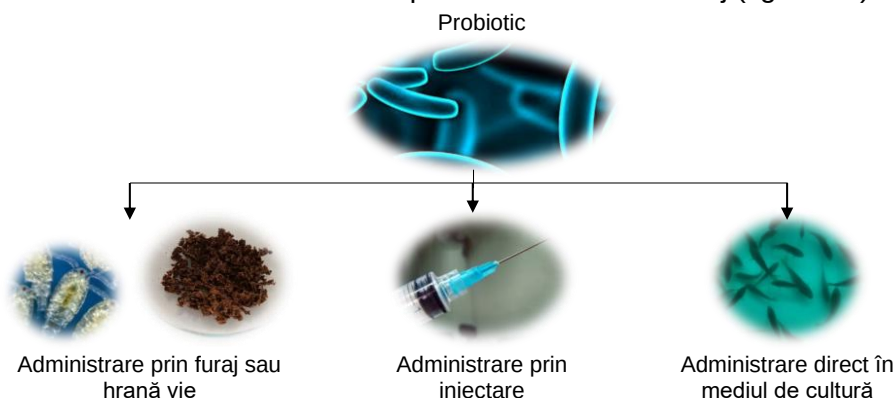


Figura 1.6. Modurile de administrare a probioticelor

Introducerea probioticelor în furaj nu se aplică stadiilor larvare datorită tractului digestiv imatur al peștilor în acest stadiu de dezvoltare. Conform ghidurilor FAO și OMS, organismele probiotice utilizate în alimentație trebuie să aibă capacitatea de a rezista sucurilor gastrice din intestin. Mai mult, trebuie să se poată multiplica și coloniza tractul digestiv (Senok et al., 2005).

CAPITOLUL II - Management tehnologic și operațional în sistemele recirculante de acvacultură industrială

O producție „importantă” de acvacultură este strâns legată de o calitate bună a mediului de cultură și de modul în care fermierii pot controla stările patologice și prădătorii.

Sistemele de cultură a peștilor sunt variate, iar în funcție de densitatea de stocare a materialului piscicol, pot fi extensive, semi-intensive și intensive.

Sistemele recirculante de acvacultură, folosite pe scară largă în acvacultura intensivă, sunt acele sisteme în care peștii sunt crescuți în condiții controlate și care reutilizează apa în procesul de producție, pe care o recondiționează cu ajutorul unor sisteme filtrante.

Principiul de bază al sistemelor recirculante de acvacultură este destul de simplu. Apa din bazinele de creștere a materialului biologic este direcționată către un filtru mecanic, în care sunt îndepărtate solidele, ajunge apoi în filtrul biologic, unde se realizează conversia amoniacului în nitrat, are loc îndepărtarea dioxidului de carbon și aerarea, ajungând înapoi în bazinele de creștere (figura 2.1).

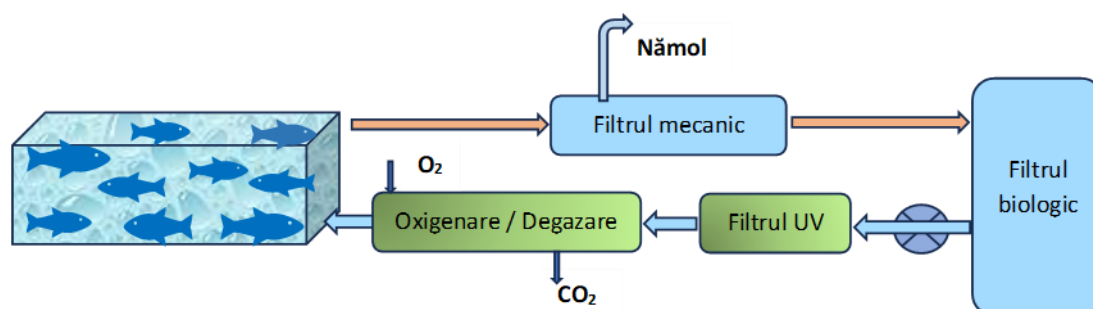


Figura 2.1. Principalele componente ale unui sistem recirculant de acvacultură (Ranjan et al., 2022)

Aceste sisteme de producție prezintă o serie de avantaje comparativ cu acvacultura tradițională, printre care amintim: consumul redus de apă, utilizarea unei suprafețe de teren mult mai mică decât în cazul unei ferme tradiționale, datorită densității crescute a materialului piscicol, controlul permanent al parametrilor biomediei, etc (Balami, 2021; Cristea et al., 2002).

II.1. Controlul calității mediului de cultură

Controlul calității apei în sistemele recirculante de acvacultură (RAS) presupune monitorizarea și menținerea constantă a parametrilor fizico-chimici ai apei, precum oxigenul dizolvat, pH-ul, temperatura, salinitatea, amoniacul, nitriții și nitrații. Aceste valori trebuie menținute în limite optime pentru a asigura sănătatea și bunăstarea peștilor.

Managementul sistemelor recirculante se bazează, în mare măsură, pe cantitatea și calitatea furajului și pe tipul de filtrare. Pentru a obține o calitate optimă a apei din sistem, trebuie gestionate foarte bine cantitatea de furaje ce intră în sistem, precum și reziduurile care sunt eliminate.

Calitatea apei din sistemele recirculante de acvacultură este caracterizată de parametri precum temperatura, oxigenul dizolvat, pH-ul, compușii cu azot, solidele fine, etc, fiecare specie de pește având intervale de toleranță la acești parametri, diferite (Pattillo, 2014).

II.2. Managementul nutriției în sistemele recirculante de acvacultură

Managementul nutriției la creșterea peștilor în RAS reprezintă un aspect important pentru creșterea sănătoasă a peștilor și pentru eficientizarea practicilor de acvacultură. Acest lucru presupune gestionarea atentă a dietei peștilor, care necesită cunoașterea cerințelor nutriționale ale speciei cultivate, a cantității de hrană administrată și a frecvenței de hrănire.

Succesul în obținerea unei creșteri semnificative a biomasei de cultură în sistemele recirculante de acvacultură este, în mare măsură, influențat de calitatea hranei administrate, care trebuie să îndeplinească cerințele nutriționale specifice ale speciei. Principalii constituenți ai unui furaj, care îi dau acestuia valoare energetică, sunt proteinele, lipidele și carbohidrații. În plus, furajele conțin vitamine și minerale necesare unei dezvoltări optime.

De asemenea, este important să se administreze cantitatea corectă de furaje peștilor, adaptată la cerințele fiecărei specii, funcție de vârstă și greutate, pentru a se evita supraalimentarea sau subalimentarea. Alimentația echilibrată reduce riscul de boli asociate cu alimentația excesivă sau malnutriția.

II.3. Biosecuritatea în sistemele recirculante de acvacultură

Biosecuritatea se referă la un set de măsuri și practici destinate prevenirii, introducerii, răspândirii și impactului agenților patogeni și al altor amenințări biologice asupra peștilor [276]. Scopul acestor măsuri de biosecuritate se referă la: reducerea riscului de transmitere a patogenilor, limitarea propagării stărilor patologice, promovarea stării de sănătate optimă a organismelor acvatice, prevenirea apariției de noi stări patologice în ecosistemele acvatice, asigurarea protecției sănătății umane prin reducerea riscului de zoonoze și garantarea siguranței alimentare (Sahu et al., 2017).

În RAS, stările patologice declanșate pot fi tratate cu un număr limitat de medicamente, deoarece substanțele active din aceste medicamente pot afecta negativ populațiile bacteriene din filtrul biologic și implicit, afectează procesele de nitrificare (Mocanu (Crețu), 2013)

Ca alternativă la tratamentul cu substanțele chimice este recomandată tratarea hranei peștilor cu compuși bioactivi din diferite plante medicinale și nu numai (Caruso et al., 2013), precum și cu bacterii probiotice care să elimine acțiunea microorganismelor patogene (Moriarty, 1998).

ACTIVITATEA EXPERIMENTALĂ

CAPITOLUL III - Evaluarea performanței de creștere și bunăstării speciei *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758, în sistem recirculant de acvacultură industrială, în condițiile aditivării hranei cu probiotice

III.1. Introducere

Schimbările climatice, sursele de apă limitate și densitățile mari de stocare a peștilor impun necesitatea identificării de soluții pentru menținerea sănătății acestora. Una dintre cele mai importante soluții este reprezentată de optimizarea dietei peștilor prin incorporarea în furaj a unor substanțe menite să îmbunătățească capacitatea de apărare naturală a acestora (Defoirdt et al., 2011).

În acest context, cercetările și-au propus evaluarea performanței de creștere și a bunăstării crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), crescut în sistem recirculant, sub influența aditivilor probiotici în alimentație.

III.2. Materiale și metode de lucru

Studiul realizat a reprezentat o cercetare experimentală, scopul acestui experiment fiind determinarea efectelor unui probiotic comercial denumit *Probiotic Complex* (PC) asupra performanțelor de creștere și a bunăstării puietului de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) crescut în sistem recirculant. Toate cercetările au fost realizate cu respectarea Directivei 2010/63/UE a Parlamentului European, care se referă la protecția animalelor utilizate în scop științific (European Parliament and Council, 2010), având aprobarea comisiei de bioetică din instituție

III.2.1. Sistemul de creștere

Experimentul s-a desfășurat pe o perioadă de 50 de zile, din 02.09.2020, până la data de 21.10.2020, la Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură Galați. Constructiv, sistemul de creștere intensiv, recirculant, a fost format din următoarele componente (figura 3.1):

- *unități de creștere a materialului piscicol* – de tip acvarii din sticlă, cu formă rectangulară, cu dimensiunile de 100 x 40 x 40 cm, volumul de apă folosit pentru o singură unitate de creștere fiind de 100 litri;

- *sisteme de tratare a apei tehnologice* – cu rolul de a asigura o calitate chimică și fizică corespunzătoare a apei de alimentare a incintelor de creștere, conform necesităților fiziologice ale speciilor de cultură și în limitele prevăzute de reglementările în vigoare (Ministerul Mediului și Gospodăririi Apelor, 2006)

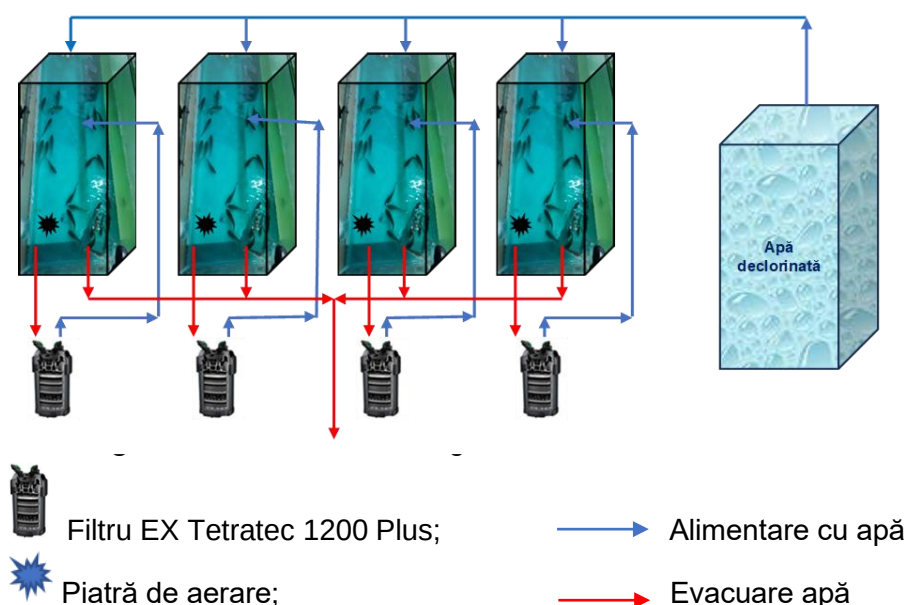


Figura 3.1. Schema tehnologică a sistemului recirculant de acvacultură

Sistemele de tratare a apei au fost reprezentate de filtre externe de tip Tetra EX 1200 Plus care conțin 5 medii de filtrare diferite

- *instalație de alimentare cu apă* – destinată alimentării cu apă tehnologică, condiționată din punct de vedere chimic, a incintelor de creștere a peștelui;
- *bazin pentru declorinare* – cu rolul de a asigura declorinarea apei în cadrul incintelor de creștere, necesar intervențiilor în cazul apariției unor defecțiuni și a primenirii zilnice a mediului acvatic.

III.2.2. Materialul biologic

Materialul biologic utilizat în acest studiu a fost reprezentat de 200 de exemplare de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) în vârstă de 1 an și cu greutatea medie corporală de $20,14 \pm 0,03$ g, provenit din Laboratorul Experimental de Cercetări Agro-Pescărești Brateș al Institutului de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură Galați. (figura 3.4).



Figura 3.4. Material biologic (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) (foto original)

După un tratament preventiv cu permanganat de potasiu, peștii au fost distribuiți aleatoriu în cele 4 unități de creștere. După aclimatizare, a început administrarea de furaj pentru materialul biologic, rația de hrană fiind de 2,5% furaj/zi din masa corporală.

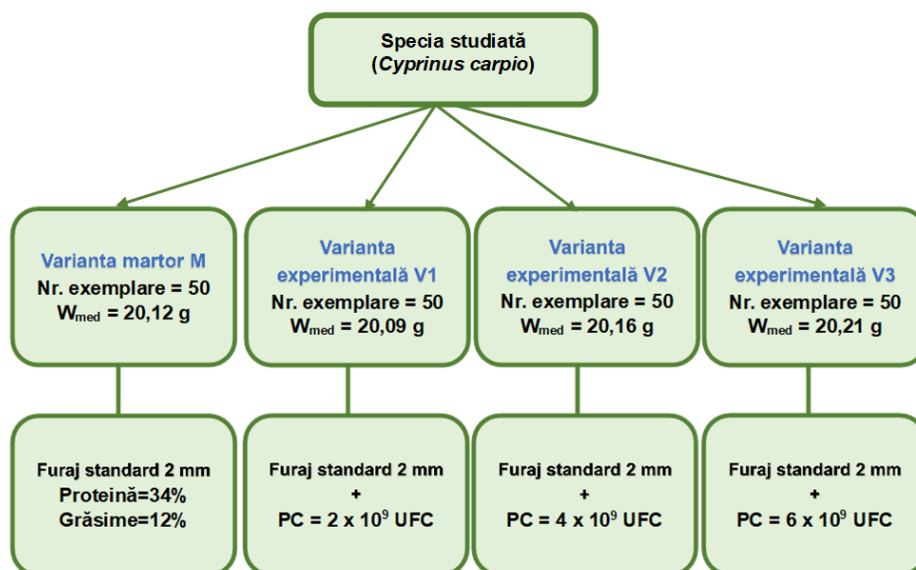
III.2.3. Caracteristicile probioticului utilizat în cercetare

Pentru îndeplinirea obiectivului propus în acest experiment a fost ales un probiotic comercial (PC), sub formă de pulbere, format dintr-un amestec de 5 „bacterii prietenoase”, cu o concentrație totală de 10×10^9 UFC. Tehnologia de microîncapsulare și dozele celor 5 tulpini asigură supraviețuirea acestor bacterii până în intestin. Componenta amestecului de bacterii, precum și concentrațiile lor, așa cum sunt descrise de producător, au fost următoarele :

- ✚ *Bifidobacterium lactis* - min. 2 mld. UFC*
- ✚ *Lactobacillus acidophilus* - min. 2 mld. UFC*
- ✚ *Lactobacillus salivarius* - min. 2 mld. UFC*
- ✚ *Lactobacillus plantarum* - min. 2 mld. UFC*
- ✚ *Lactobacillus casei* - min. 2 mld. UFC*

Au fost constituite 4 variante experimentale, o variantă de control și 3 variante în care furajul a fost aditivat cu probiotic (PC) în diferite concentrații, astfel (Savin, Cristea, et al., 2022) (figura 3.6):

- VM – proba martor, fără probiotic
- V1 – furaj cu 80 mg PC, în concentrație de 2×10^9 UFC/kg furaj;
- V2 – furaj cu 160 mg PC, în concentrație de 4×10^9 UFC/kg furaj;
- V3 – furaj cu 240 mg PC, în concentrație de 6×10^9 UFC/kg furaj



P.C. = Probiotic Complex; UFC = unități formatoare de colonii

Figura 3.6. Schema tehnologică de organizare a experimentului

Înglobarea probioticului în furaj s-a realizat folosind ca liant o soluție de agar de concentrație 3%. Probioticul, sub formă de pulbere, a fost dizolvat în soluția de agar, pulverizat peste furajul clasic, acesta fiind apoi uscat la temperatura camerei.

III.2.4. Metode de determinare a parametrilor de calitate a apei

Calitatea apei a fost monitorizată zilnic, referitor la temperatură, pH și oxigen dizolvat(OD), săptămânal determinându-se nitriții (NO_2^-), nitrații (NO_3^-), amoniacul (NH_3^+), ionii amoniu(NH_4^+) și substanța organică, conform protocoalelor de lucru stabilite în metodele standard de analiză a apelor de suprafață (Patriche et al., 2001), utilizându-se analizorul portabil HQ40d Hach Lange cu 2 conectori pentru sonde și spectrofotometrul portabil DR1900 Hach Lange, împreună cu kiturile LCK de la Hach Lange.

III.2.5. Metodologia de calcul a indicatorilor de performanță tehnologică

Pe parcursul studiului a fost urmărită evoluția principalilor indicatori de ordin tehnologic, prin intermediul măsurărilor biometrice periodice, al consumului de furaje și al ratei de supraviețuire.

Pentru determinarea performanței de creștere s-au calculat următorii parametri: sporul real de creștere (**Sr**), rata zilnică de creștere (**GR**), rata specifică de creștere (**SGR**), factorul de conversie a hranei (**FCR**), coeficientul de eficiență proteică (**PER**).

III.2.6. Metode de investigare a indicilor hematologici

Evaluarea sănătății materialului piscicol a inclus analiza unor parametri hematologici și biochimici sanguini, a căror modificări pot indica stări patologice sau de stres.

Recoltarea probelor de sânge s-a realizat prin puncția venei caudale, iar înainte de procedură peștii au fost anesteziați prin îmbăiere într-o soluție formată din 2,5 ml de ulei de cuișoare la 10 litri de apă.

Analizele hematologice au constatat în determinarea numărului de eritrocite (RBC), a hematocritului (Ht), a hemoglobinei (Hb) și a constantelor eritrocitare: volumul eritocitar mediu (VEM), hemoglobina eritocitară medie (HEM), concentrația în hemoglobină eritocitară medie (CHEM). Metodele de analiză au fost cele clasice descrise de (Kondi, 1981; Ognean & Cernea, 2006).

III.2.7. Metode de investigare a parametrilor biochimici serici

Indicii biochimici serici determinați au fost: conținutul proteinelor serice totale, prin metoda biuretului și concentrația de glucoză din sânge, ambele efectuate după metodele clasice.

III.2.8. Metode de determinare a compoziției biochimice a cărnii de pește

Compoziția biochimică a cărnii a fost determinată în Laboratorul pentru Procesarea, Calitatea și Siguranța Produselor din Acvacultură și Pescuit din cadrul I.C.D.E.A.P.A Galați folosind metodele standard ale (AOAC, 2003). Au fost determinate **substanțele proteice totale**, prin metoda Kjeldahl, conform STAS 6514-75, **conținutul de apă**, conform STAS 6508-73, prin încălzirea probei de carne în etuva Binder, la temperatura de 103°C, timp de 2 ore, până la masă constantă, **substanțele grase**, folosind metoda Soxhlet, cu ajutorul sistemului de extracție de tip VELP (VELP Scientific, Inc., N.Y., USA), conform STAS 6512-73 și **conținutul de cenușă**, prin calcinarea probei în cuptorul de calcinare de tip Nabertherm la 600°C și cântărirea reziduului, conform STAS 6511-87.

III.2.9. Prelucrarea statistică a datelor experimentale

Analiza statistică a datelor s-a realizat prin intermediul programelor Excel 2019 și SPSS Statistics 17.0. Normalitatea distribuției s-a verificat prin Shapiro – Wilk pentru eșantioane mai mici. Testarea pentru omogenitatea varianței a fost realizată cu testul Levene. Pentru a compara grupurile experimentale s-au utilizat ANOVA single factor și testul t. Rezultatele au fost considerate ca fiind diferite din punct de vedere statistic la $p < 0,05$.

III.3. Rezultate și discuții

Scopul cercetării a fost de a evalua impactul probioticelor asupra sănătății și creșterii peștilor, precum și asupra calității apei în sistemele recirculante. Discuțiile se vor concentra pe interpretarea datelor experimentale, compararea datelor obținute cu cele din literatura de specialitate și identificarea beneficiilor și limitărilor utilizării probioticelor în acvacultură.

III.3.1. Evaluarea parametrilor de calitate a apei

Pe durata experimentului, au fost monitorizate zilnic: pH-ul, temperatura, oxigenul dizolvat. Săptămânal, s-au măsurat concentrația substanțelor organice și compușii cu azot (ionii amoniu, nitrit și nitrat). În funcție de acești parametrii apa este clasificată în diferite clase de calitate, conform Ordinului 161/2006 (Ministerul Mediului și Gospodăririi Apelor, 2006).

Temperatura apei a înregistrat o valoare medie de 23.3°C, cu un minim de 20.1°C și un maxim de 26.9°C, menținându-se în limitele admise pentru creșterea crapului (Savin, Cristea, et al., 2022). Valorile de temperatură nu au indicat diferențe semnificative între cele 4 variante ale experimentului ($p=0,92$) (figura 3.28).

Oxigenul dizolvat, monitorizat zilnic pe fiecare unitate de creștere, a avut o valoare medie în cele 4 acvarii de $7,7 \pm 1,0$ mg/l, cu un minim de 4,7 mg/l și un maxim de 8,9 mg/l. Pentru îmbunătățirea concentrației de oxigen dizolvat, s-a practicat aerarea suplimentară, folosind pompa de aer Resun LP-100.

Din punct de vedere statistic, valorile medii ale oxigenului dizolvat nu au indicat diferențe semnificative între variante ($p=0,71$) (figura 3.28).

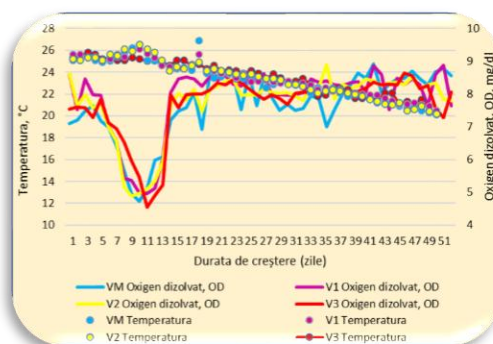


Figura 3.28. Dinamica temperaturii și oxigenului dizolvat în cele 4 unități de creștere, pe perioada experimentală

Pe perioada experimentală, valorile **pH-ului** au variat între un minim de 6,96 și un maxim de 8,21 unități de pH, media înregistrată fiind de $8,00 \pm 0,15$ UpH în varianta martor (VM), $7,77 \pm 0,24$ UpH în V1 și V2, respectiv $7,87 \pm 0,19$ UpH în V3.

Nitriții au înregistrat valori între 0,01 mg/l și 0,20 mg/l, media fiind 0,12 mg/l.

Nitrații, produși intermediari rezultați în urma procesului de nitrificare, prin transformarea ionilor amoniu, au înregistrat valori între 1,11 mg/l și 5,46 mg/l, cu o medie ușor depășită în varianta martor, de 4,95 mg/l.

III.3.2. Evaluarea performanței de creștere a materialului biologic

Puietul de crap implicat în studiu a fost distribuit aleatoriu în cele 4 unități de creștere, astfel încât loturile experimentale formate să fie cât mai omogene, fapt evidențiat prin testul Levene ($p=0,17$).

După 50 de zile de creștere, masa corporală medie a puietului de crap a înregistrat diferențe din punct de vedere statistic între variantele experimentale ($p<0.05$), având o evoluție ascendentă în toate variantele experimentale, cu valori ușor mai crescute în V1 și V2. Masa corporală cea mai mare s-a obținut în varianta V2, unde s-a administrat probiotic în concentrație de 4×10^9 UFC/kg ($46,28 \pm 0,38$ g), urmată de variantele V1 și V3 cu $45,10 \pm 0,60$ g, respectiv $44,98 \pm 0,57$ g (figura 3.35). Rezultatele atestă influența pozitivă a furajelor cu adaos de probiotic asupra acumulării de biomasă la puietul de crap.

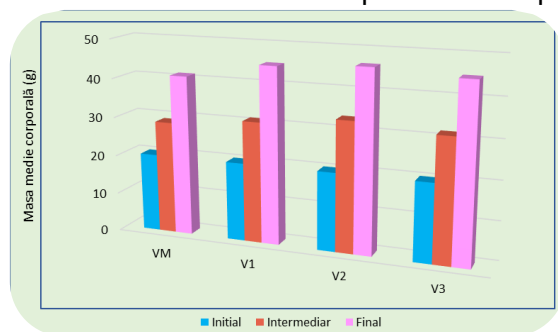


Figura 3.35. Evoluția masei corporale medii pe parcursul experimentului

Analizând datele obținute din calculul indicatorilor de performanță ai creșterii (tabel 4), se observă o rată de creștere zilnică (GR) de 0,52 g/zi în varianta V2, urmată de varianta V3 și V1, unde s-au înregistrat valori de 0,50 g/zi și varianta martor VM, cu 0,42 g/zi.

Tabelul nr. 4 - Tablou sintetic al indicatorilor de performanță tehnologică ai crapului pe perioada experimentală

Parametri de creștere	VM	V1	V2	V3
Parametri la populare				
Număr exemplare	50	50	50	50
Masa individuală inițială (g)	20,14±0,04	20,14±0,04	20,15±0,04	20,14±0,03
Biomasa inițială (kg)	1,01	1,01	1,01	1,01
Densitate inițială (kg/m ³)	10,07	10,07	10,07	10,07
Parametri intermediari - după 25 zile				
Număr exemplare	50	50	50	50
Masa individuală intermediară (g)	28,91±0,54	30,96±0,81	33,26±0,88	31,58±0,61
Biomasa intermediară (kg)	1,45	1,55	1,66	1,58
Densitate intermediară (kg/m ³)	14,45	15,48	16,63	15,79
Parametri la finalul experimentului				
Număr exemplare	49	49	50	50
Masa individuală finală (g)	41,07±0,50	45,10±0,60	46,28±0,38	44,98±0,57
Biomasa finală (kg)	2,01	2,21	2,31	2,25
Densitate finală (kg/m ³)	20,12	22,10	23,14	22,49

Parametri de creștere	VM	V1	V2	V3
Parametrii creșterii				
Număr zile creștere	50	50	50	50
Sporul individual de creștere (g/ex.)	20,94	24,96	26,13	24,84
Sporul total de creștere (kg)	1,01	1,20	1,31	1,24
Total hrană distribuită (kg)	1,53	1,60	1,67	1,62
Coeficient de conversie hrană FCR (g/g)	1,51	1,33	1,27	1,31
Rata creșterii zilnice (g/zi)	0,42	0,50	0,52	0,50
Rata specifică de creștere SGR (%/zi)	1,39	1,57	1,66	1,61
Coeficient de eficiență proteică PER	1,92	2,20	2,30	2,25

Rata specifică de creștere (SGR) a avut o creștere de 20% în V2 față de martor, 16% în V3 față de martor și de 13,45% în V1 față de martor (figura 3.37).

Factorul de conversie a hranei (FCR) a înregistrat valori între 1,27 și 1,51 g furaj/g spor de creștere, indicând o eficiență mai bună a hrănirii în variantele în care furajul a fost suplimentat cu probiotic (1,27 g/g în V2, 1,31 g/g în V3 , respectiv 1,33 g/g în V1), comparativ cu martorul (1,51 g/g). Un factor de conversie mai mic indică abilitatea peștilor de a utiliza eficient nutrienții din hrană. Valorile coeficientului de eficiență proteică (PER) mai ridicate în variantele experimentale, față de martor, corelate cu valori mai mici ale FCR, sugerează faptul că puietul de crap din variantele în care s-a suplimentat hrana cu probiotice a valorificat mai bine proteina din furajul consumat (figura 3.38).

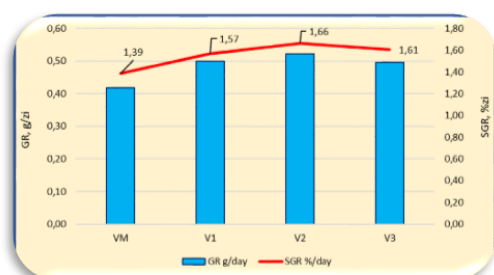


Figura 3.37. Variația coeficienților SGR și GR

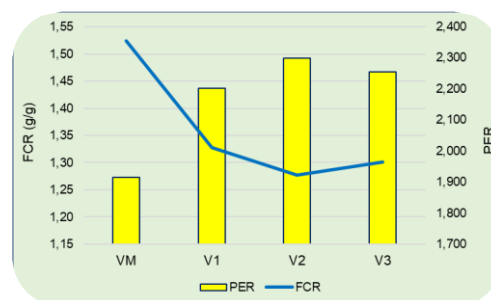


Figura 3.38. Evoluția FCR și PER

Referitor la performanța de creștere, acest experiment a concluzionat că introducerea unui complex de probiotice, din genurile *Lactobacillus* și *Bifidobacterium* , în hrana puietului de crap, conduce la îmbunătățirea parametrilor de creștere, prin indicatorii mai sus-prezentați.

III.3.3. Evaluarea indicilor hematologici

La începutul și la sfârșitul perioadei experimentale s-au recoltat probe de sânge de la câte 7 exemplare din fiecare lot, prin metoda puncției caudale. Indicii hematologici determinați au fost: numărul de eritrocite (RBC), hematocritul (Ht), hemoglobina (Hb) și constantele eritrocitare: volumul eritrocitar mediu (VEM), hemoglobina eritocitară medie (HEM), concentrația în hemoglobină eritocitară medie (CHEM).

Rezultatele obținute indică o îmbunătățire a parametrilor hematologici în toate variantele experimentale, comparativ cu martorul, astfel:

- Valorile medii ale *hematocritului* au crescut în toate loturile experimentale, în comparație cu lotul martor. La finalul perioadei experimentale s-a constatat creșterea

hematocritului față de martor ($28,31 \pm 0,28$ %), cu 0,26% în V1, cu 2,76% în V2 și 1,47% în V3, diferențele înregistrate fiind semnificative ($p=0,002$) (figura 3.39).

- A fost observată o ușoară creștere a concentrației de *hemoglobină*, cu 0,11% în varianta V1, față de martor ($7,97 \pm 0,09$ g/dl) și cu 4,23% în varianta V3. În schimb, în varianta V2 valoarea medie a concentrației de hemoglobină s-a redus cu 2,78% (figura 3.40).

- Numărul de *eritrocite* la sfârșitul perioadei experimentale a avut valori de $1,34 \pm 0,11$ mil. / μ l sânge în V1, $1,30 \pm 0,06$ mil./ μ l sânge în V2, respectiv $1,38 \pm 0,13$ mil./ μ l sânge în V3. Varianta martor a înregistrat o valoare medie a numărului de eritrocite de $1,31 \pm 0,23$ mil. / μ l sânge (figura 3.41).

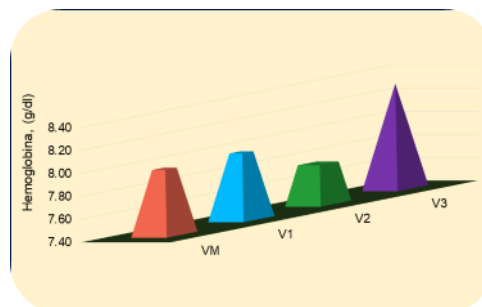
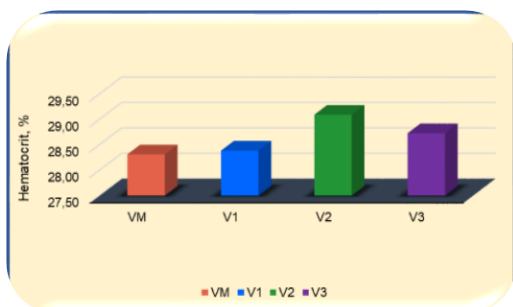


Figura 3.39. Valorile medii ale hematocritului **Figura 3.40.** Valorile medii ale hemoglobinei

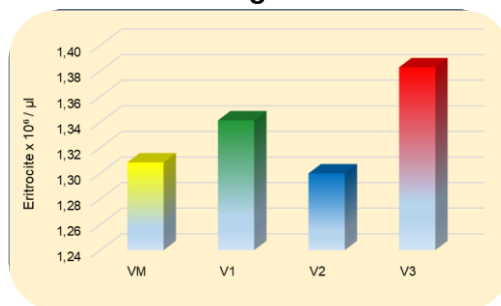


Figura 3.41. Valorile medii ale numărului de eritrocite

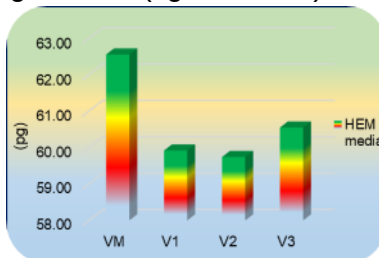
- *Volumul eritocitar mediu (VEM)* a înregistrat valori de $222,12 \pm 38,11 \mu\text{m}^3$ în varianta martor (VM), $224,10 \mu\text{m}^3$ în V2, mai mici în V1 și V3 cu 4,15 %, respectiv 5,73 și cu 0,89 % mai mare în V2, diferențele din punct de vedere statistic fiind nesemnificative ($p=0,61$) (figura 3.42.a);

- *Hemoglobina eritocitară medie (HEM)* s-a încadrat în limitele normale (50-63 pg) (Summerfelt & Penne, 2005).

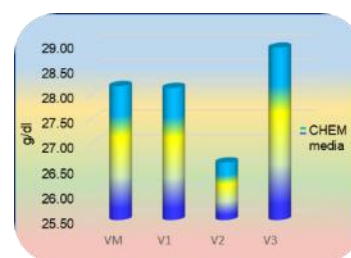
- *Concentrația de hemoglobină eritocitară medie (CHEM)* s-a situat peste intervalul normal (15-25 g/dl), având valori de $28,16 \pm 0,49$ g/dl în VM, $28,12 \pm 1,48$ g/dl în V1, $26,64 \pm 0,58$ g/dl în V2, respectiv $28,92 \pm 0,48$ g/dl în V3 (figura 3.42.c)



(a)



(b)



(c)

Figura 3.42. Reprezentarea grafică a constantelor eritrocitare

III.3.4. Evaluarea parametrilor biochimici serici

Parametrii serici importanți în stabilirea profilului metabolic sanguin și pe baza cărora se poate stabili starea fiziologică generală a peștilor sunt:

- ✚ proteinele serice totale, principalul indicator al statutului nutrițional al organismului;
- ✚ concentrația de glucoză din sânge are un rol important în evaluarea stării de stres.

Evoluția parametrilor serici determinați în acest experiment este prezentată în figurile 3.43 și 3.44.

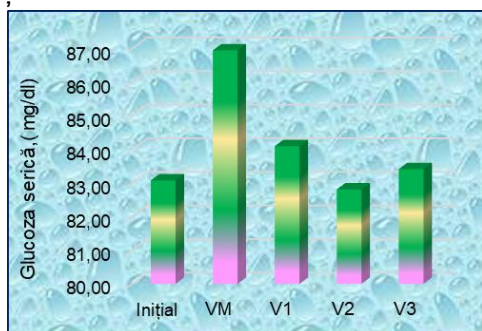


Figura 3.43. Valorile medii ale glucozei

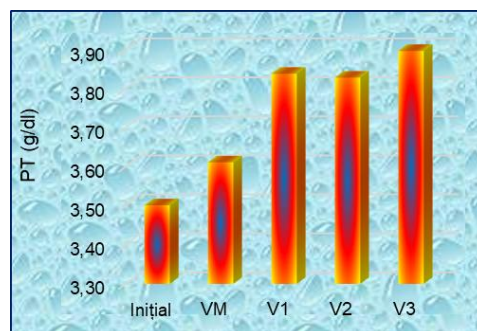


Figura 3.44. Valorile medii ale proteinei serice totale

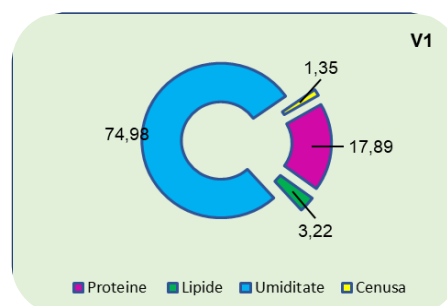
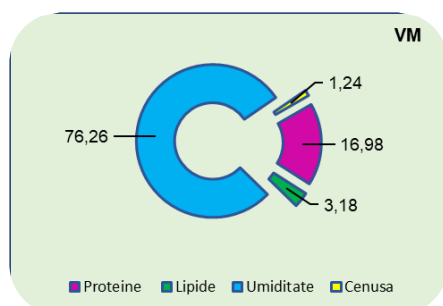
La finalul experimentului, valorile medii ale conținutului de **glucoză** s-au încadrat între $82,81 \pm 0,51$ mg/dl și $86,95 \pm 0,02$ mg/dl.

Proteinele serice totale (PT) au înregistrat o creștere semnificativă la finalul experimentului, față de inițial ($p=0,002$). Astfel, s-a observat o creștere semnificativă a valorii medii a proteinelor serice în variantele în care s-a adăugat probiotic în furaj, față de varianta martor VM ($3,61 \pm 0,01$ g/dl). Conținutul/concentrația de probiotic nu a influențat semnificativ valorile medii ale proteinelor serice.

III.3.5. Analiza compoziției biochimice a cărnii de pește

Principalii constituenți biochimici ai țesutului muscular (proteine, lipide, umiditate, cenușă) au fost determinați la începutul și la finalul experimentului, pentru fiecare variantă experimentală.

Efectul dietelor îmbogățite cu diferite concentrații de probiotic asupra compoziției biochimice a cărnii crapului implicat în acest experiment este prezentat în figura 3.46.



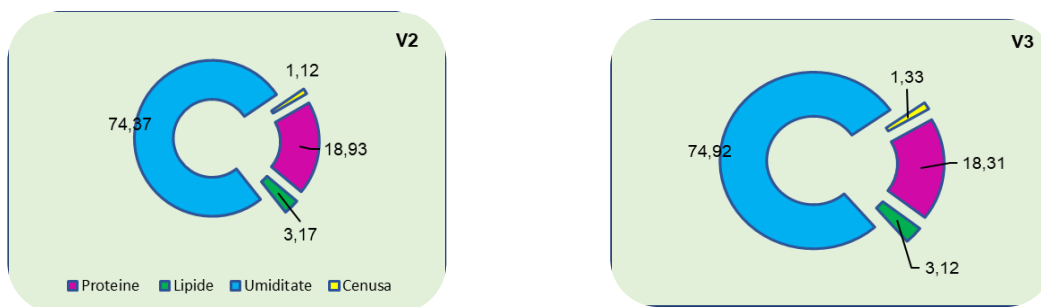


Figura 3.46. Reprezentarea grafică a compoziției biochimice a cărnii la finalul experimentului

Conținutul de proteină a avut o valoare medie de 14,86 % la debutul experimentului, iar la final s-a încadrat între și 16,98 – 18,93

Concentrația **lipidelor** din țesutul muscular al peștilor la finalul experimentului s-a încadrat între 3,12 și 3,22 %, având o creștere în V1 de 1,2% față de martor.

Conținutul de apă a înregistrat valori la sfârșitul perioadei experimentale de 76,26% în varianta martor, 74,98% în V1, 74,37% în V2 și 74,92% în V3 (figura 3.47).

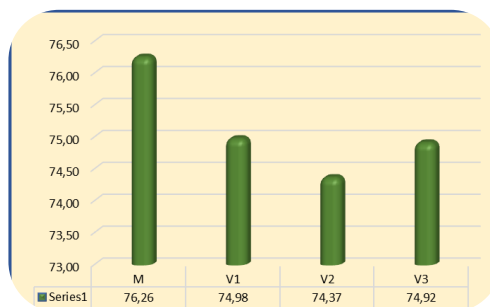


Figura 3.47. Variația conținutului de apă din carnea de crap la sfârșitul experimentului

III.4. Concluzii

În urma cercetărilor experimentale efectuate s-au desprins la următoarele concluzii:

➤ utilizarea complexului de probiotice din genurile *Lactobacillus* și *Bifidobacterium* ca aditivi în hrana crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) crescut în sistem recirculant nu influențează semnificativ parametri de calitate a apei tehnologice, aceștia fiind menținuți în limitele admise la creșterea acestei specii;

➤ evoluția parametrilor de creștere arată efectul pozitiv al probioticelor încorporate în hrana crapului, exemplarele din variantele experimentale V1 – V3 atingând o greutate corporală mai mare, comparativ cu varianta martor (VM). Biomasa loturilor experimentale, care au fost hrănite cu diete suplimentate cu PC, în diferite cantități, a crescut în procent de peste 100% față de momentul inițial, cea mai mare creștere fiind înregistrată în varianta experimentală în care furajul a fost aditivat cu o cantitate de 160 mg PC / kg furaj, respectiv o concentrație de 4×10^9 UFC/ kg de furaj;

➤ de asemenea, a fost remarcată o valorificare superioară a nutrienților din hrană, în toate variantele experimentale, comparativ cu lotul martor, exprimată prin indicatori precum factorul de conversie a hranei (FCR) și coeficientul de eficiență proteică (PER). Probioticele pot contribui la îmbunătățirea echilibrului microbiotei intestinale a peștilor, determinând o

digestie mai bună, respectiv o capacitate mai bună a organismului de a descompune și asimila nutrienții din hrană. În cercetarea experimentală prezentă, ca urmare a suplimentării dietei crapului cu diferite concentrații de PC, s-a observat reducerea valorii indicelui FCR în toate loturile experimentale, precum și creșterea valorii indicelui PER, acești doi indicatori fiind complementari și deosebit de importanți în evaluarea performanțelor nutriționale ale furajelor în acvacultură. Suplimentarea dietei cu 160 mg PC/kg furaj, în varianta experimentală V2 a condus la obținerea celor mai buni parametri de performanță tehnologică;

➤ răspunsul hematologic al materialului biologic implicat în acest studiu, funcție de concentrația de PC introdusă în hrană, a fost analizat prin valorile medii și variația indicilor hematologici determinați (hemoglobină, hematocrit, număr de eritrocite și constante eritrocitare), precum și prin compararea acestora cu datele din literatura de specialitate. Astfel, comparativ cu martorul, analiza indicilor hematologici a evidențiat o îmbunătățire a acestora în toate variantele experimentale, demonstrând eficacitatea probioticelor din furaj asupra metabolismului și sistemelor biologice implicate;

➤ valorile concentrației de glucoză, ca indicator al stării de stres, s-au situat, în toate cele 3 variante experimentale în care s-a administrat compusul probiotic (PC), la un nivel mai mic decât în varianta martor;

➤ biochimia cărnii a evidențiat o creștere a conținutului de proteină în variantele experimentale, tratate cu probiotice, concomitent cu scăderea conținutului de apă din țesutul muscular.

Analizând toate cele de mai sus, se poate afirma faptul că *utilizarea probioticelor în hrana puietului de crap a dus la îmbunătățirea principalilor indici de creștere, a stării de sănătate a peștilor și a calității cărnii acestuia*. Cele mai bune rezultate s-au obținut la o concentrație de Probiotic Complex de 4×10^9 UFC/kg furaj.

CAPITOLUL IV - Evaluarea performanței de creștere și stării de sănătate a speciei *Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758 în sistem recirculant de acvacultură industrială, în condițiile aditivării hranei cu compuși vegetali bioactivi

IV.1 Introducere

Utilizarea plantelor medicinale pentru prevenirea și tratarea stărilor patologice la pești se bazează în principal pe abilitatea acestora de a întări sistemul imunitar, de a funcționa ca antioxidanți sau chiar de a combate direct agenții patogeni prin intermediul unor compuși bioactivi conținuți, cum ar fi polifenolii, polizaharidele, saponinele, flavonoidele, alcaloizii și uleiurile esențiale.

IV.2. Materiale și metode de lucru

Cercetările au fost efectuate în anul 2020, într-un sistem de creștere de tip recirculant, în cadrul Institutului de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură Galați, detaliat în capitolul III.2.1.

Scopul cercetărilor efectuate în cadrul acestui experiment a fost acela de a urmări efectele administrării unor compuși bioactivi vegetali existenți în plante precum lemn dulce,

echinacea și cimbrisor asupra indicilor de creștere, a ratei de supraviețuire, a indicilor hematologici și serici și asupra calității cărnii crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), crescut în condiții experimentale, în sistem recirculant.

IV.2.1. Sistemul de creștere

Cercetarea s-a desfășurat în perioada 07.10.2020 – 27.11.2020, timp de 52 de zile, la Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură Galați. Au fost organizate 4 variante experimentale, în care s-au administrat fitoaditivii mai sus amintiți, conform schemei de organizare din figura 4.1.

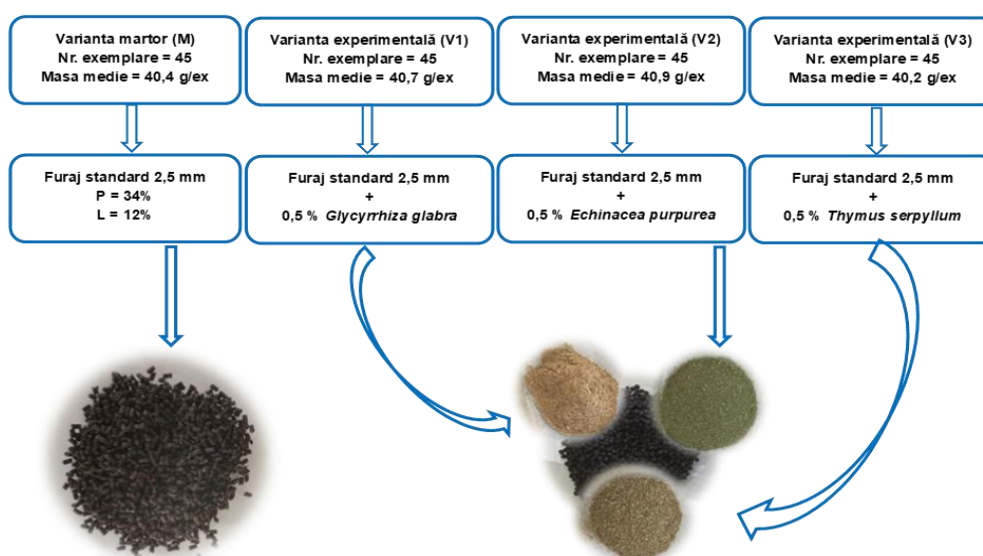


Figura 4.1. Schema de organizare a experimentului

Sistemul de creștere utilizat a fost de tip recirculant, descris în capitolul III.2.

IV.2.2. Materialul biologic

Materialul piscicol utilizat în acest experiment a fost reprezentat de 185 de exemplare de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), în vârstă de 1 an și masa medie corporală de $40,5 \pm 0,55$ g, provenit din Laboratorul Experimental de Cercetări Agro-Pescărești Brateș al Institutului de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură Galați (figura 4.2) (Savin, Mocanu, et al., 2022a)



Figura 4.2. Exemplare de crap implicate în cercetări (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) (foto original)

IV.2.3. Caracterizarea fitoaditivilor utilizați

Pentru îndeplinirea obiectivului propus în acest experiment, dietele experimentale au fost suplimentate cu fitocompuși din echinacea (*Echinacea purpurea*), lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*) (figura 4.3) (Savin, Mocanu, et al., 2022b). Au fost preferate aceste plante medicinale datorită conținutului lor bogat în compuși bioactivi și proprietăților lor benefice peștilor.

În vederea desfășurării cercetărilor propuse, au fost constituite 4 variante de cercetat, martorul și 3 variante experimentale, în care, în furajul de bază au fost incluși compuși fitogenici, astfel:

- varianta martor (M), în care materialul biologic a fost hrănit doar cu furaj clasic, fără adaos de compuși fitogenici;
- varianta experimentală 1 (V1), la care s-a adăugat 5 g extract lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) la 1 kg de furaj;
- varianta experimentală 2 (V2), unde s-a adăugat 5 g extract echinacea (*Echinacea purpurea*) la 1 kg furaj;
- varianta experimentală 3 (V3), unde s-a adăugat 5 g extract cimbrisor (*Thymus serpyllum*) la 1 kg furaj (Savin, Mocanu, et al., 2022b).

Înglobarea extractelor în furaj s-a realizat folosind ca liant o soluție de gelatină de concentrație 2%.

IV.2.4. Metode de determinare a parametrilor de calitate a apei și a performanței de creștere

În vederea monitorizării parametrilor fizico-chimici ai apei, s-au folosit echipamentele și metodele prezentate în capitolul anterior (vezi cap. III.2.4).

Evoluția parametrilor de creștere, evidențiați prin indicatorii de performanță (spor de creștere, rata zilnică de creștere, rata specifică de creștere, factorul de conversie a hranei, coeficientul de eficiență proteică) s-a determinat cu ajutorul formulelor de calcul descrise în capitolul III.2.5.

IV.2.5. Metode de determinare a indicilor hematologici și biochimici serici

Monitorizarea sănătății materialului piscicol s-a realizat prin determinarea unor indicatori hematologici și biochimici serici, metodele de lucru și aparatura utilizată în acest scop fiind descrise în capitolul III.2.6. Numărul de **leucocite** din sânge a fost determinat prin metoda descrisă de (Hunter & Bomford, 1968), cu ajutorul camerei de numărat Neubauer și pipetei Potain pentru numărarea leucocitelor.

IV.2.6. Metode de determinare a compoziției biochimice a cărnii de pește

În ceea ce privește determinarea compoziției biochimice a cărnii peștelui, s-au utilizat echipamentele și metodele de lucru descrise în capitolul III.2.7.

IV.2.7. Prelucrarea statistică a datelor experimentale

Prelucrarea statistică a datelor experimentale s-a efectuat cu ajutorul programelor Excel 2019 și SPSS Statistics 17.0. Pentru a compara grupurile experimentale s-au utilizat ANOVA

single factor și testul t. Rezultatele au fost considerate ca fiind diferite din punct de vedere statistic la $p < 0,05$.

IV.3. Rezultate și discuții

IV.3.1. Monitorizarea calității apei

Parametrii fizico-chimici ai apei au fost menținuți la valori optime datorită gestionării eficiente a deșeurilor, care au fost eliminate cu regularitate după fiecare masă, prin sifonare. Primerirea zilnică a apei s-a realizat în proporție de până la 50 %, cu apă de la rețea, înmagazinată într-un rezervor pentru decolorare. Această practică a contribuit la menținerea unui mediu acvatic propice pentru dezvoltarea sănătoasă a crapului, evitând acumularea excesivă de deșeuri și asigurând condiții de viață favorabile pentru specia studiată.

IV.3.2. Performanța de creștere a materialului biologic

În acest experiment, patru acvarii experimentale au fost populate cu un număr de 45 de exemplare de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), reprezentând biomase aproximativ egale, astfel: 1,82 kg – M, 1,83 kg – V1, 1,84 kg – V2 și 1,81 kg – V3.

După 51 de zile de creștere, masa medie individuală a crescut cu aproximativ 67 % în M, 87 % în V1, 84 % în V2, respectiv 69 % în V3, față de masa inițială.

Evoluția indicatorilor bioproductivi ai speciei crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) obținuți în acest experiment, în condițiile aditivării hranei cu compuși bioactivi, este prezentată în tabelul 8.

Tabelul nr. 8. Indicatorii bioproductivi obținuți la creșterea speciei crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) în sistem recirculant de acvacultură, hrănit cu diete aditivate cu compuși bioactivi

Parametri	M	V1	V2	V3
POPULARE				
Nr. exemplare	45	45	45	45
Biomasa inițială, kg	1,82	1,83	1,84	1,81
Masa individuală, g	40,4	40,7	40,9	40,2
Densitatea inițială kg/m ³	14,54	14,65	14,72	14,47
RECOLTARE				
Nr. exemplare	44	45	44	45
Supraviețuire, %	97,78	100,00	97,78	100,00
Biomasa finală, kg	2,98	3,42	3,30	3,06
Masa individuală finală, g	67,71	76,07	75,05	68,01
Densitatea finală, kg/m ³	23,83	27,39	26,42	24,48
PARAMETRII CREȘTERII				
Nr. zile creștere	51	51	51	51
Sporul individual de creștere, g	27,31	35,37	34,15	27,81
Sporul total de creștere, kg	1,16	1,59	1,46	1,25
Total hrana distribuită, kg	2,78	2,98	2,96	2,89
*FCR, g hrană/g spor creștere	2,40	1,87	2,03	2,31
Rata zilnică de creștere, g/zi	0,54	0,69	0,67	0,55
Rata specifică de creștere SGR, %/zi	0,97	1,23	1,15	1,03

* FCR = Factorul de conversie a hranei

Din tabelul indicatorilor de performanță se observă o creștere a biomasei în variantele experimentale la finalul experimentului, față de debut, cu 63,87 % în lotul martor (M), 69,18 %

În varianta hrănită cu cimbrisor, 79,42 % în lotul căruia i s-a administrat echinacea, cea mai mare creștere fiind în lotul hrănit cu furaj cu adaos de lemn dulce (86,91%).

Din datele prezentate reiese faptul că adaosul de lemn dulce, echinacea și cimbrisor are efecte benefice asupra utilizării furajelor, cea mai bună valorificare a furajului observându-se în lotul V1, hrănit cu furaj suplimentat cu lemn dulce (figura 4.15).

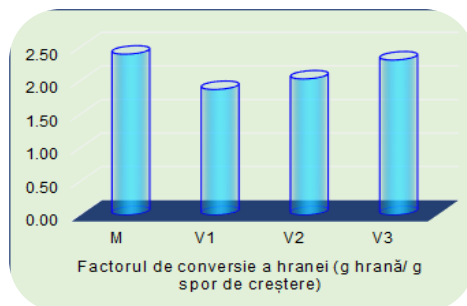


Figura 4.15. Evoluția factorului de conversie a hranei (Savin, Mocanu, et al., 2022b)

Rata specifică de creștere, SGR, un indicator tehnologic important, a înregistrat cea mai bună valoare în cazul lotului hrănit cu lemn dulce (1,23 %/zi), urmat de lotul în care s-a administrat echinacea (1,15 %/zi), 1,03 %/zi pentru lotul hrănit cu cimbrisor și 0,97 %/zi în cazul lotului martor. (figura 4.16).

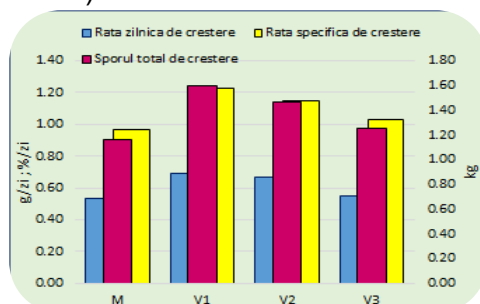


Figura 4.16. Rata zilnică de creștere, rata specifică de creștere și sporul total de creștere în cele trei bazine experimentale comparativ cu lotul martor (Savin, Mocanu, et al., 2022b)

Concluzionând, se poate afirma că suplimentarea dietei crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) cu compuși bioactivi din echinacea (*Echinacea purpurea*), lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*) are ca efect îmbunătățirea funcțiilor sistemului digestiv, ceea ce duce la un consum bun de furaje și, implicit, la o performanță de creștere superioară.

IV.3.3. Analiza indicilor hematologici și a parametrilor serici

S-a analizat variația valorilor indicilor hematologici și constantelor eritrocitare, la populare și la finalul experimentului (tabelul 9). Indicii hematologici determinați au fost: numărul de eritrocite (RBC), hematocritul (Ht), hemoglobina (Hb), numărul de celule albe (WBC) și constantele eritrocitare: volumul eritrocitar mediu (VEM), hemoglobina eritrocitară medie (HEM), concentrația în hemoglobină eritrocitară medie (CHEM).

Tabelul nr. 9 Variația parametrilor hematologici la începutul și sfârșitul perioadei experimentale
(Savin et al., 2023)

	Hematocrit (%), media ± sd	Hemoglobină (g/dl) media ± sd	Eritrocite (*10 ⁶ /μl) media ± sd	Globule albe (* 10 ³ /μl) media ± sd	VEM (μm ³) media ± sd	HEM (pg) media ± sd	CHEM (g/dl) media ± sd
La populare	32,21±0,91	9,67±0,09	1,69±0,02	51,64±0,40	191,11±7,15	57,37±0,86	30.05±0,93
La finalul experimentului							
M	34,81±0,50	9,72±0,17	1,71±0,02	51,69±0,18	203,80±4,83	56,92±1,26	27,94±0,52
V1	34,85±0,20	9,81±0,02	1,92±0,02	52,07±0,13	181,65±1,88	51,16±0,44	28,16±0,16
V2	35,19±0,01	9,79±0,02	1,89±0,02	51,75±0,01	186,63±1,64	51,91±0,41	27,82±0,04
V3	36,49±0,02	9,83±0,08	1,90±0,02	50,73±0,04	191,91±1,93	51,70±0,76	26,94±0,20

Analizând rezultatele din tabelul de mai sus se evidențiază următoarele aspecte:

✓ La finalul studiului, **hematocritul** a înregistrat diferențe semnificative între martor (M) și lotul V3 (p<0.05). În schimb, diferențele au fost nesemnificative între M și variantele în care s-a administrat lemn dulce, V1 (p=0,877) și echinacea, V2 (p=0,097).

✓ Concentrația de **hemoglobină** nu a înregistrat diferențe semnificative între martor și cele 3 variante experimentale la finalul experimentului.

✓ Numărul de **eritrocite** al exemplarelor din lotul martor M a fost de 1,71±0,02*10⁶ celule/μl sânge, fiind mai mic decât în variantele experimentale, cu 10,95 % față de V1, cu 9,39 % față de V2 și cu 10,14 % față de V3.

✓ Numărul de **celule albe** a crescut ușor, comparativ cu martorul, în variantele hrănite cu lemn dulce (V1) și echinacea (V2). În schimb, în lotul V3, hrănit cu cimbrisor, valorile medii ale numărului de leucocite au fost mai scăzute comparativ cu martorul.

✓ În ceea ce privește **Volumul eritrocitar mediu (VEM)**, valorile obținute s-au încadrat în limitele impuse pentru acest parametru (152-364 μm³) (Savin et al., 2023).

✓ **Hemoglobina eritocitară medie (HEM)** a scăzut semnificativ (P<0.05) la finalul experimentului în variantele experimentale, comparativ cu lotul martor, valorile obținute încadrându-se în limitele normale (50-63 pg).

✓ Valorile reprezentând **concentrația hemoglobinei eritocitare medii (CHEM)** au fost peste limita superioară normală pentru acest parametru. O explicație pentru aceste valori ar putea fi apariția unei anemii în biomasa de cultură.

Măsurarea nivelului de glucoză din sânge la pești este unul dintre cele mai simple moduri de a determina starea de stres, deoarece acest parametru se modifică chiar înainte de apariția simptomelor bolii. Conținutul total de proteine din ser joacă un rol esențial în menținerea sănătății.

Valorile medii ale glucozei și proteinelor serice totale obținute în urma acestui experiment sunt prezentate în tabelul 10.

Tabelul nr. 10. Valorile glucozei și a proteinei serice totale la populare și la finalul experimentului

Varianta experimentală	Glucoza serica,	Proteine serice totale,
La populare	94,21±0,37	2,98±0,03
La finalul experimentului		
M	94,46±0,11	3,01±0,13
V1	91.14±0.02	2,32±0,02
V2	92.82±0.04	2,72±0,01
V3	93,57±0,01	2,87±0,05

Analizând valorile obținute, se observă că nivelul glucozei serice la finalul experimentului a crescut în lotul martor față de momentul de debut, dar a scăzut semnificativ în variantele experimentale V1 – V3, comparativ cu lotul martor ($p < 0,05$) (Savin et al., 2023). Valorile medii ale glicemiei obținute în acest experiment au fost peste valorile maxime considerate normale pentru peștii de cultură (40-90 mg/dl) (Malini et al., 2018).

Proteinele serice au înregistrat valori medii de $2,98 \pm 0,03$ g/dl la debutul experimentului, în timp ce la final valorile au fost cuprinse între $2,32 \pm 0,02$ g/dl - $3,01 \pm 0,13$ g/dl, cu un conținut mai mare în lotul martor (Savin et al., 2023).

Se evidențiază faptul că furajele cu fitoaditivi nu au reprezentat un factor de stres pentru materialul biologic implicat în experiment, ba dimpotrivă, au fost de ajutor în reglarea anumitor funcții în organism, parametrii biochimici confirmând acest fapt.

IV.3.4. Analiza compoziției biochimice a cărnii de pește

Pentru a aprecia corect valoarea nutritivă a cărnii peștilor implicați în acest experiment, precum și a modului în care a fost valorificată hrana, s-a determinat compoziția biochimică a țesutului muscular.

Valorile obținute la finalul experimentului pun în evidență variația compoziției biochimice a cărnii în funcție de dietele folosite în variantele experimentale, comparativ cu martorul (figura 4.26).

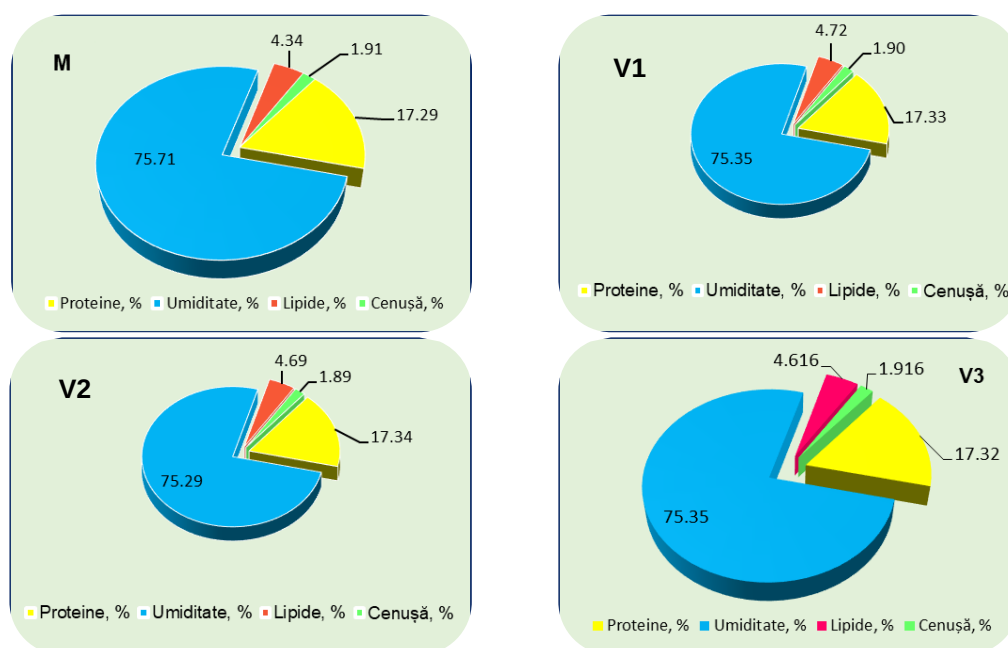


Figura 4.26. Reprezentarea grafică a compoziției biochimice a cărnii în variantele experimentale la finalul experimentului

Analiza biochimică a cărnii la finalul experimentului a indicat diferențe semnificative între martor și variantele în care s-au administrat compuși bioactivi vegetali, în ceea ce privește conținutul de umiditate ($p < 0,05$) și de lipide ($p < 0,05$) (Savin, Mocanu, et al., 2022b). Diferențele au fost însă nesemnificative în ceea ce privește conținutul de proteine ($p = 0,108$) și de cenușă ($p = 0,692$).

La finalul experimentului s-a constatat creșterea conținutului de proteine și lipide în carnea de pește în toate variantele, ceea ce denotă o stare de întreținere bună a materialului piscicol.

IV.4. Concluzii

În acest experiment au fost cercetate efectele lemnului dulce (*Glycyrrhiza glabra*), echinaceei (*Echinacea purpurea*) și cimbrisorului (*Thymus serpyllum*), ca surse importante de compuși bioactivi valoroși, în doză de 5 g/kg furaj, asupra creșterii și stării de sănătate a puietului de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758). În urma cercetărilor efectuate au fost evidențiate următoarele concluzii:

- compușii bioactivi din fitoaditivii utilizați în hrana crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) crescut în sistem recirculant nu au influențat parametrii de calitate a apei, aceștia menținându-se în limite admise pentru creșterea lui;
- analizând indicatorii bioproductivi, se remarcă efectul pozitiv al compușilor bioactivi din fitoaditivii utilizați, biomasa în variantele experimentale fiind, comparativ cu martorul, cu 10,85 % mai mare în varianta în care a fost administrată echinacea, cu 2,73 % mai mare în varianta V3 (cimbrisor), cea mai mare creștere a biomasei înregistrându-se în V1, în care a fost adăugat lemn dulce;
- rata specifică de creștere (SGR) a fost, de asemenea, superioară în variantele experimentale V1-V3 comparativ cu martorul M, iar valorificarea furajelor, exprimată prin factorul de conversie a hranei (FCR), a fost mai eficient realizată în cazul grupurilor în care s-au adăugat compuși bioactivi în furaj, comparativ cu martorul;
- analiza hematologică a evidențiat o îmbunătățire a parametrilor sangvini, corelată cu regimul alimentar aplicat, respectiv compușii bioactivi prezenți în lemn dulce, echinacea și cimbrisor, ceea ce indică faptul că hrana a influențat pozitiv metabolismul și starea de sănătate a peștilor studiați;
- referitor la biochimia serică, a fost evidențiat efectul hipoglicemiant al lemnului dulce, astfel că, în varianta experimentală (V1) s-a observat scăderea valorii glucozei serice față de martor;
- modificările pozitive ale parametrilor biologici determinați indică o stare de sănătate bună și o adaptare eficientă a puietului de crap la condițiile tehnologice, corelate cu modul de hrănire;
- analiza biochimică a cărnii puietului de crap a evidențiat o creștere a conținutului de proteine și lipide în cazul exemplarelor hrănite cu furaj suplimentat cu compuși bioactivi din lemn dulce, echinacea și cimbrisor, explicată prin sporirea biomasei.

Prin urmare, analizând cele enumerate mai sus, se poate afirma faptul că utilizarea materiilor vegetale ca sursă de compuși bioactivi în hrana puietului de crap a dus la îmbunătățirea principalilor indici de creștere și consum, a stării de sănătate a peștilor, precum și la îmbunătățirea calității cărnii acestuia.

CAPITOLUL V – Influența unei diete îmbogățite cu probiotice asupra performanței de creștere și bunăstării speciei *Acipenser baerii*, Brandt, 1869 în sistem recirculant de acvacultură

V.1. Introducere

Sistemele recirculante sunt frecvent utilizate în acvacultură deoarece permit obținerea unor producții mari pe volume reduse, iar biomasa crește rapid în greutate datorită controlului strict al furajelor (Cristea et al., 2005). Cu toate acestea, în sistemele recirculante, organismele acvatice sunt expuse stresului, ceea ce duce adesea la apariția problemelor de sănătate.

În aceste condiții, deoarece în experimentul anterior s-a observat un efect benefic al probioticelor în creșterea și starea de sănătate a crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) crescut în sistem recirculant, s-a luat decizia de a cerceta efectul acestora și asupra altei specii, și anume nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869).

V.2. Materiale și metode de lucru

Cercetările experimentale au fost efectuate la Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Ecologie Acvatică, Pescuit și Acvacultură din Galați, într-un sistem recirculant pilot de tip acvariu (figura 5.1).

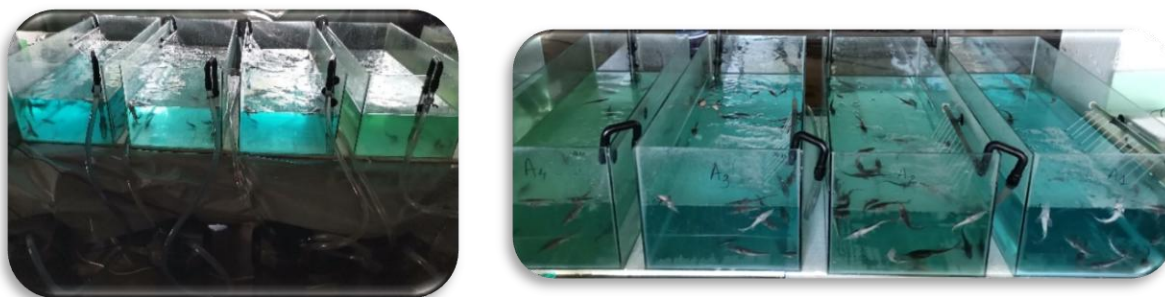


Figura 5.1. Acvarii populate cu nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) (foto original)

Scopul cercetărilor efectuate în cadrul acestui experiment a fost acela de a determina efectele administrării unui probiotic comercial, numit Probiotic Complex (PC), asupra creșterii și bunăstării speciei *Acipenser baerii*, Brandt, 1869, crescută în condiții experimentale, în sistem recirculant.

V.2.1. Sistemul de creștere

Perioada de desfășurare a experimentului a fost 03 mai – 04 iulie 2021, timp de 63 de zile. Materialul biologic folosit pentru cercetări a fost reprezentat de 120 de exemplare de nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) cu vârsta de 2 luni, obținut prin reproducere artificială în Stația Pilot de Cercetare a I.C.D.E.A.P.A. Galați (Savin et al., 2024).

Conform schemei de organizare prezentată în figura 5.2, au fost organizate 4 variante experimentale, în care s-a administrat complexul de probiotice PC, în diferite concentrații.

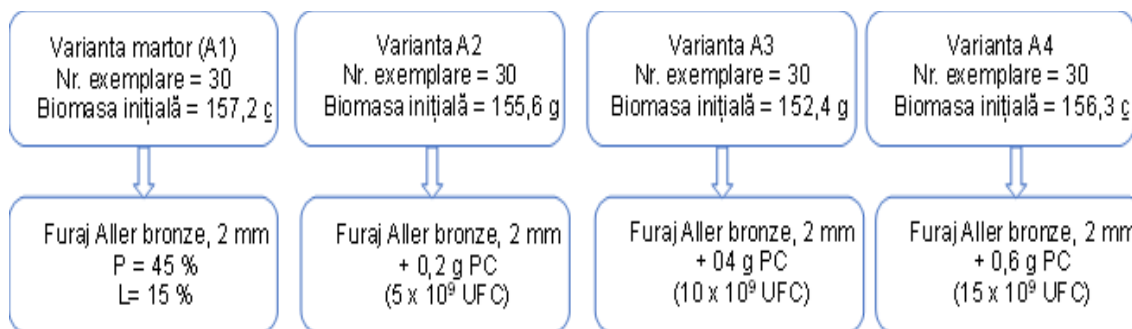


Figura 5.2. Schema de organizare a experimentului

Sistemul de creștere utilizat, descris în capitolul III.2.1, a fost alcătuit din 4 unități de creștere de tip acvariu cu dimensiunile de 100 x 40 x 40 cm, volumul de apă folosit în acest caz, pentru fiecare unitate de creștere, fiind de 125 de litri.

V. 2.2. Materialul biologic

Materialul biologic folosit în acest studiu a fost nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869). 120 de exemplare de nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) au fost distribuite în mod egal în cele 4 incinte de creștere, masa corporală medie inițială fiind cuprinsă între $5,08 \pm 0,5$ g și $5,24 \pm 0,39$ g (figura 5.3).



Figura 5.3. Nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869)
(foto original)

V.2.3. Caracteristicile probioticului utilizat

Ca și în experimentul descris în capitolul III.2.3, s-a folosit probioticul comercial, numit Probiotic Complex (PC), sub formă de pulbere, constituit dintr-un amestec de 5 „bacterii prietenoase”, cu o concentrație totală de 10×10^9 UFC.

S-au realizat 4 variante de hrănire:

- ✓ varianta martor - A1, în care s-a administrat doar furajul clasic;
- ✓ varianta experimentală - A2, în care, în furaj s-au introdus 0,2 g PC/kg furaj (concentrația 5×10^9 UFC);
- ✓ varianta experimentală - A3, în care, furajul a fost suplimentat cu 0,4 g PC/kg furaj (concentrația 10×10^9 UFC);
- ✓ Varianta experimentală - A4, în care, furajul a fost suplimentat cu 0,6 g PC/kg furaj (concentrația 15×10^9 UFC) (Savin et al., 2024).

V.2.4. Metode de determinare a parametrilor de calitate a apei și a performanței de creștere

Monitorizarea parametrilor fizico-chimici ai apei s-a realizat prin determinări săptămânale ale compușilor cu azot (NO_2^- , NO_3^- , NH_3^+ , NH_4^+) și a substanței organice. Zilnic, au fost monitorizați următorii parametri: temperatură, oxigen dizolvat și pH, folosind analizorul portabil HQ40d Hach Lange cu 2 conectori pentru sonde.

Performanța de creștere a puietului de nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) a fost determinată cu ajutorul parametrilor cunoscuți: sporul real de creștere, sporul individual de creștere, rata zilnică de creștere, rata specifică de creștere, coeficientul de conversie a hranei, folosind formulele de calcul prezentate în capitolul III.2.5. Toate exemplarele au fost măsurate și cântărite la începutul și la sfârșitul experimentului (figurile 5.4; 5.5)



Figura 5.4. Determinări biometrice ale exemplarelor de *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) la debutul experimentului (foto original)



Figura 5.5. Determinări biometrice ale exemplarelor de *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) la finalul experimentului (foto original)

V.2.5. Metode de determinare a indicilor hematologici și biochimici serici

Prezența factorilor stresori în mediul de viață se reflectă în apariția anumitor modificări în profilul hematologic. Evaluarea numărului de celule roșii, celule albe, formula leucocitară, evaluarea hemoglobinei și hematocritului, precum și a constantelor eritrocitare s-a dovedit a fi un bun instrument în stabilirea stării de sănătate a peștilor.

Probele de sânge au fost prelevate din vena caudală (figura 5.6.), după anestezierea prealabilă în baie cu ulei de cuișoare.



Figura 5.6. Prelevarea sângelui (*foto original*)

Formula leucocitară s-a determinat examinând frotiurile de sânge la microscopul Kern OBN 135 cuplat cu camera foto Kern ODC 832, folosind obiectivul cu imersie (10 x 100) și exprimând procentual fiecare categorie de leucocite, după examinarea a cel puțin 200 de celule albe. *Frotiurile de sânge* (figura 5.9.) au fost colorate folosind metoda panoptică, cunoscută și sub denumirea de colorație May-Grunwald-Giemsa.

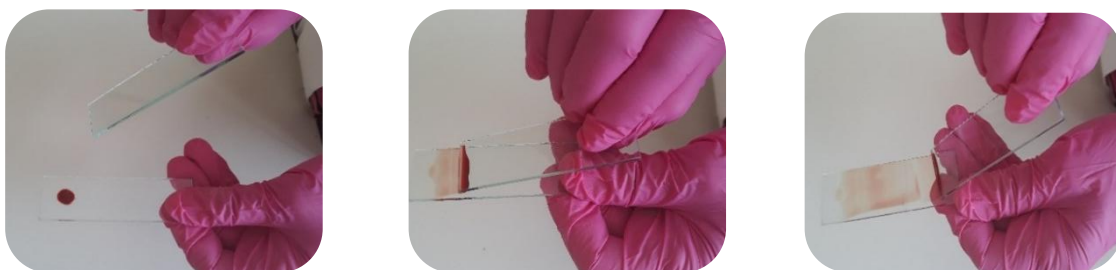


Figura 5.9. Realizarea frotiurilor de sânge (*foto original*)

Proteinele serice totale s-au determinat prin metoda biuretului, în care probele de ser au fost amestecate cu soluția de lucru a reactivului Biuret, după care a fost citită extincția la spectrofotometrul UV-VIS SPEKOL 1300 Analytikjena, la lungimea de undă de 546 nm, față de martor.

Glucosa serică, exprimată în mg/dl, a fost determinată prin metoda cu orto-toluidină descrisă în capitolul III.2.8.

V.2.6. Metode de determinare a compoziției biochimice a cărnii de pește

Metodele și echipamentele de lucru pentru determinarea compoziției biochimice a țesutului muscular pentru carnea de pește au fost descrise pe larg în capitolul II.2.7.

Substanțele proteice totale din carnea de pește au fost determinate prin metoda Kjeldahl.

Conținutul de apă a fost determinat prin uscarea probei de carne în etuvă, la temperatura de 130 °C, până la masă constantă

Conținutul de substanțe grase a fost determinat cu ajutorul sistemului de tip VELP, prin extracția grăsimii cu un solvent, îndepărtarea solventului, uscarea și apoi cântărirea probei.

Conținutul de substanțe minerale (cenușă) a fost determinat prin calcinarea probelor la temperatura de 600°C și cântărirea reziduului rămas.

V.3. Rezultate și discuții

Obiectivul fundamental al investigațiilor realizate în contextul acestui experiment a constat în evaluarea impactului administrării probioticului comercial denumit "Probiotic Complex" (PC) asupra procesului de creștere și a stării generale a speciei *Acipenser baerii*, Brandt, 1869.

V.3.1 Evaluarea parametrilor de calitate a apei

Pe parcursul experimentului, **oxigenul dizolvat** a avut valori medii de $7,32 \pm 0,94$ mg/l în A1, $6,93 \pm 0,10$ mg/l în A2, $6,93 \pm 1,19$ în A3, respectiv $6,99 \pm 1,11$ mg/l în A4. Valorile medii ale oxigenului din cele 4 incinte nu au prezentat diferențe semnificative din punct de vedere statistic ($p = 0,14$ ANOVA One Way) (Savin et al., 2024) (tabel 12).

Temperatura apei în unitățile de creștere a variat de la un minim de $17,3^\circ\text{C}$ în luna mai la un maxim de $26,6^\circ\text{C}$ la sfârșitul lunii iunie.

Tabelul nr. 12. Valorile minime, medii, maxime și deviația standard ale oxigenului dizolvat în perioada experimentală

Oxigen dizolvat (mg/l)	Minim	Maxim	Media	SD
A1	5,41	8,89	7,32	0,94
A2	4,63	8,81	6,93	1,01
A3	4,21	8,96	6,93	1,19
A4	4,66	8,62	6,99	1,11

La începutul experimentului, concentrațiile de **nitriți** în apă au fost puțin peste limita recomandată, atingând un maxim de $0,24$ mg/l. Cu toate acestea, pe măsură ce filtrul biologic a început să funcționeze la parametrii normali, concentrațiile de nitriți au început să scadă, stabilizându-se la o medie între $0,09$ mg/l în bazinele A2 și A4 și $0,1$ mg/l în bazinele A1 și A3. (figura 5.13).

Nitrații au înregistrat valori care au variat între $1,59$ și $6,48$ mg/l, cu o medie de $4,77 \pm 1,41$ mg/l în A1, $4,46 \pm 1,15$ mg/l în A2, $4,47 \pm 1,16$ mg/l în A3 și $4,50 \pm 1,20$ mg/l în A4, încadrându-se în limitele admise. Nu au fost diferențe semnificative între valorile nitraților din cele 4 incinte de creștere ($p = 0,939$) (Savin et al., 2024) (figura 5.14)

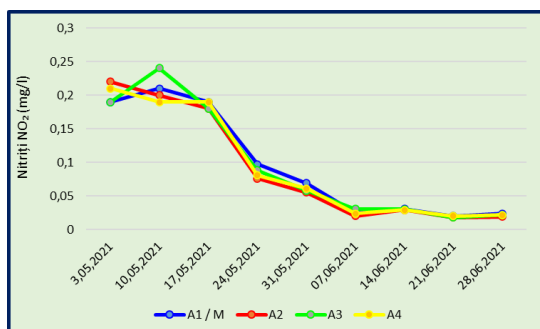


Figura 5.13. Dinamica nitriților pe parcursul experimentului

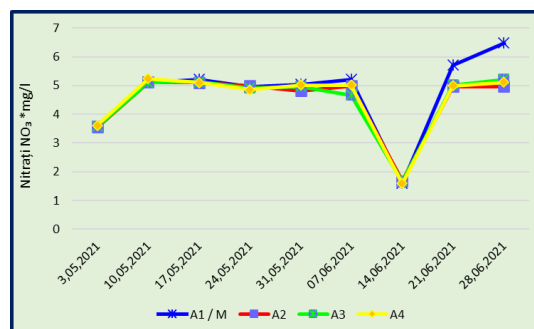


Figura 5.14. Dinamica nitraților pe parcursul experimentului

V.3.2. Evaluarea performanței de creștere a materialului biologic

La debutul și finalul experimentului, cele 120 de exemplare de nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) au fost măsurate și cântărite, cu scopul de a evalua indicatorii de performanță tehnologică ai acestora, în condițiile administrării de probiotice în hrană.

Indicatorii bioproductivi obținuți în urma experimentării creșterii nisetruului siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) într-un sistem recirculant și hrănit cu concentrații diferite de probiotic sunt prezentați în tabelul 14.

Tabelul nr. 14. Indicatori bioproductivi înregistrați la specia *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) în urma administrării unor diete suplimentate cu probiotice (Savin et al., 2024)

Parametrii	A1	A2	A3	A4
Populare				
Număr de exemplare	30	30	30	30
Biomasa inițială (g)	157,2	155,7	152,4	156,3
Masa medie individuală (g)	5,24	5,19	5,08	5,21
Densitatea inițială (kg/m ³)	1,26	1,25	1,22	1,25
Recoltare				
Număr de exemplare	29	30	30	29
Supraviețuire (%)	96,67	100,00	100,00	96,67
Biomasa finală (kg)	1,029	1,184	1,082	1,030
Masa medie individuală finală (g)	35,47	39,48	36,07	35,50
Densitatea finală (kg/m ³)	8,23	9,47	8,66	8,24
Parametrii de creștere				
Număr zile de creștere	63	63	63	63
Sporul individual de creștere (g)	30,23	34,29	30,99	30,29
Spor total de creștere (kg)	0,872	1,029	0,930	0,873
FCR (g hrană/g spor de creștere)	0,64	0,59	0,62	0,65
Rata zilnică de creștere (g/zi)	0,48	0,54	0,49	0,48
Rata specifică de creștere SGR	2,98	3,22	3,11	2,99
PER (g)	3,46	3,77	3,57	3,42

Se observă că cel mai mare spor de creștere a fost înregistrat în grupul A2, în care s-au administrat 0,2 g PC/kg furaj (1,029 kg), urmat de grupul A3 (0,93 kg), lotul A4 (0,873 kg) și lotul martor (0,872 kg). Aceeași tendință s-a observat și în cazul ratei zilnice de creștere, cât și al ratei specifice de creștere SGR (figura 5.18).

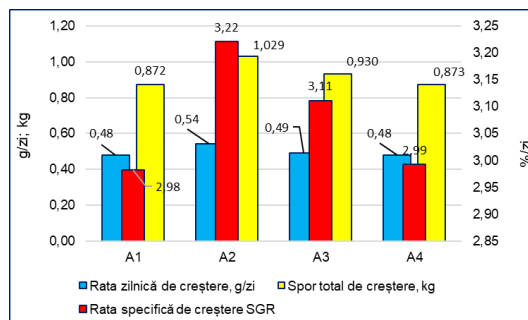


Figura 5.18. Evoluția SGR, GR și sporului total de creștere

Referitor la factorul de conversie a hranei, se observă că o valoare mai bună s-a obținut în lotul A2 (0,59 g hrană/g spor de creștere), urmat de A3 (0,62 g hrană/g spor de creștere), A1 (0,64 g hrană/g spor de creștere) și A4 (0,65 g hrană/g spor de creștere). În lotul martor valoarea factorului de conversie a hranei a fost mai mic decât cel înregistrat în lotul A4, ceea ce ar putea însemna că o concentrație mai mare de probiotic ar putea influența negativ

eficiența consumului de furaje (Savin et al., 2024). De asemenea, dietele cu probiotic au avut efecte benefice asupra raportului de eficiență proteică (PER). Se observă variația invers proporțională a lui PER față de FCR (figura 5.19).

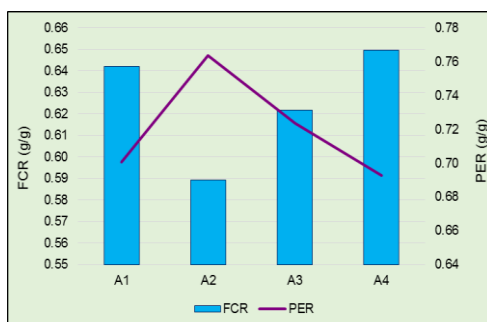


Figura 5.19. Variația FCR și PER în variantele experimentale

V.3.3. Evaluarea indicilor hematologici și a parametrilor serici

Pentru a evalua dacă diferite cantități/concentrații ale amestecului probiotic utilizat în dieta administrată au determinat modificări în profilul sanguin, s-a analizat variația valorilor indicilor hematologici și a constantelor eritrocitare, la finalul experimentului (tabel 15). Indicii hematologici determinați au fost: numărul de eritrocite (RBC), hematocritul (Ht), hemoglobina (Hb) și constantele eritrocitare: volumul eritocitar mediu (VEM), hemoglobina eritocitară medie (HEM), concentrația în hemoglobină eritocitară medie (CHEM), precum și numărul de celule albe din sânge (WBC).

Tabelul nr. 15. Variația parametrilor hematologici sfârșitul perioadei experimentale

	Eritrocite (*10 ⁶ /μl) media ± sd	Hemoglobină (g/dl) media ± sd	Hematocrit (%), media ± sd	VEM (μm ³) media ± sd	HEM (pg) media ± sd	CHEM (g/dl) media ± sd	Globule albe (* 10 ³ /μl) media ± sd
Lotul martor A1	0,42±0,05	4,32±0,04	26,43±0,20	629,74±70,06	102,93±11,42	16,35±0,17	28,16±0,16
Lotul A2	0,48±0,04	5,09±0,19	26,03±0,19	549,13±50,67	107,52±11,05	19,57±0,25	31,16±0,06
Lotul A3	0,46±0,02	5,60±0,06	27,15±0,05	587,49±25,18	121,21±5,54	20,63±0,24	31,17±0,07
Lotul A4	0,51±0,03	5,72±0,02	28,62±0,02	560,73±26,35	112,08±5,56	19,99±0,12	32,06±0,06

Analizând datele din tabelul 15 se observă că, în general, adaosul de probiotice a dus la îmbunătățirea indicilor hematologici ai nisetruului siberian (Savin et al., 2024).

Numărul **eritrocitelor** (figura 5.20) a înregistrat o creștere comparativ cu lotul martor (0,42 milioane/μl sânge), având valori medii cuprinse între 0,46 și 0,51 milioane/μl sânge. Nu au fost diferențe din punct de vedere statistic între loturile în care s-au administrat cantități diferite de probiotic în dietă (figura 5.21). Valoarea cea mai mare a numărului de eritrocite s-a obținut în lotul în care s-a administrat cea mai mare cantitate de probiotic (A4 – 0,51 mil./μl).

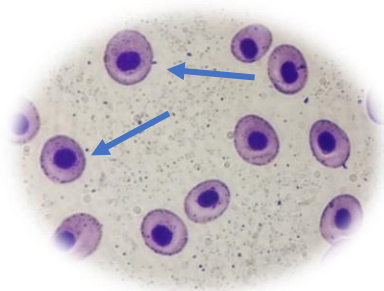


Figura 5.20. Eritrocite (foto original)

Concentrația de **hemoglobină** indică o evoluție, influențată de cantitatea de probiotic introdusă în dieta peștilor. Astfel, cea mai mare valoare a concentrației de hemoglobină s-a obținut în lotul A4 ($5,72 \pm 0,02$) (figura 5.22).

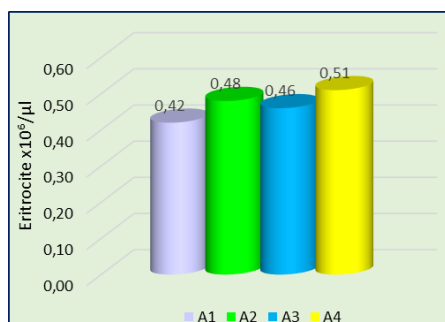


Figura 5.21. Variația numărului de eritrocite la finalul experimentului

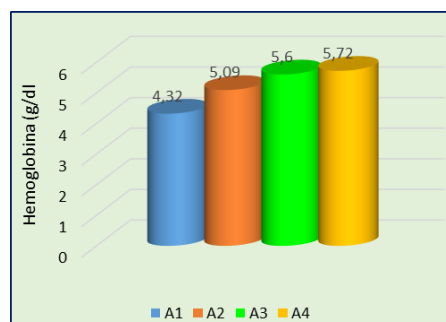


Figura 5.22. Variația concentrației de hemoglobină la finalul experimentului

Hematocritul a prezentat diferențe semnificative între cele 4 loturi ($p < 0,05$), încadrându-se totuși în limitele considerate normale pentru peștii sănătoși, de 20-45 % (Hrubec & Smith, 1998).

Numărul de **leucocite** a crescut comparativ cu martorul în toate loturile în care s-a administrat probiotic.

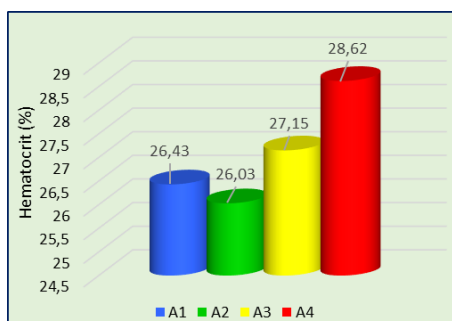


Figura 5.23. Variația hematocritului la finalul experimentului

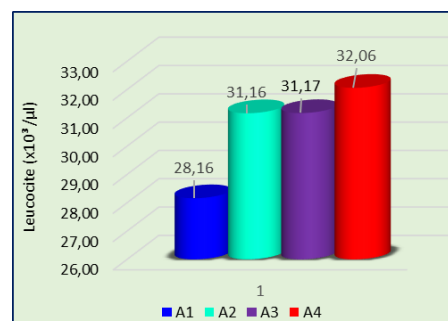


Figura 5.24. Variația numărului de leucocite la finalul experimentului

Analiza frotiurilor de sânge la finalul experimentului a evidențiat prezența limfocitelor, monocitelor, iar dintre granulocite s-au observat neutrofile și eozinofile. Grafic, procentul diferitelor tipuri de celule albe din cele 4 loturi din experiment este prezentat în figura 5.25.

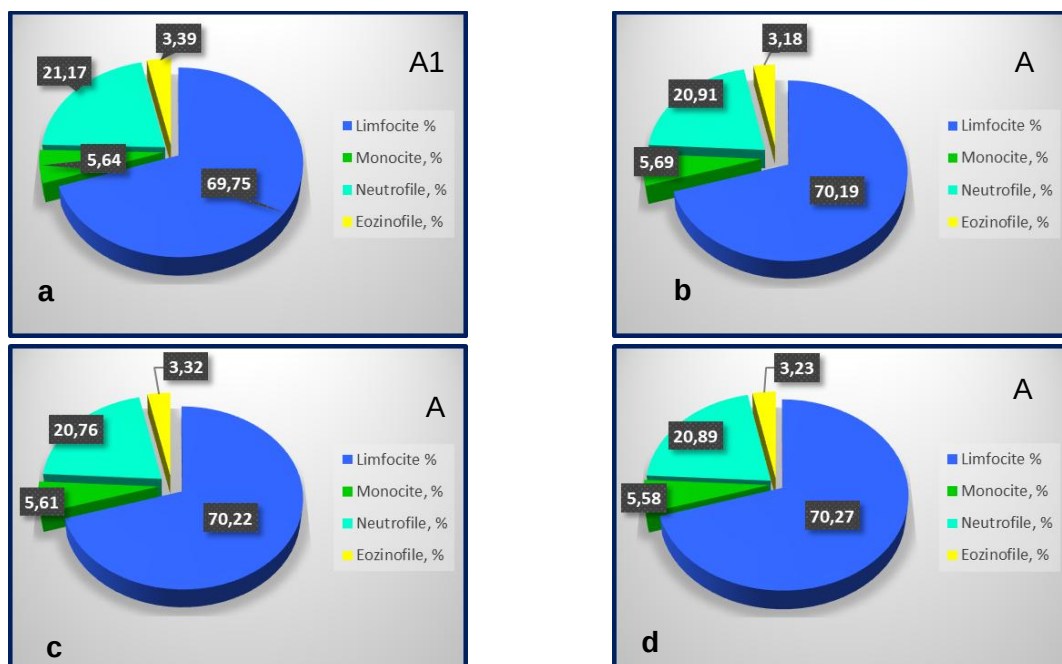


Figura 5.25. Leucograma puietului de *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) la finalul experimentului

Variația glucozei serice și a proteinelor serice totale pe parcursul experimentului este prezentată în tabelul 16.

Tabelul nr. 16. Valorile glucozei și proteinei serice totale la finalul experimentului

	Glucoza serica,	Proteine serice totale,
Lotul martor A1	46,41±0,05	2,29±0,03
Lotul A2	46,27±0,02	2,43±0,05
Lotul A3	45,98±0,12	2,38±0,03
Lotul A4	45,62±0,39	2,56±0,03

Se observă că peștii hrăniți cu diete suplimentate cu probiotice au prezentat niveluri mai scăzute de glucoză în sânge, comparativ cu martorul. Nivelul glucozei din sânge a scăzut odată cu creșterea concentrației de probiotice, cea mai mare diferență față de martor înregistrându-se în lotul A4, unde concentrația glucozei a fost cu 1,7 % mai mică decât în lotul martor, A1 (Savin et al., 2024).

Proteinele serice au înregistrat valori medii cuprinse între 2,29±0,03 g/dl și 2,56±0,03 g/dl, cu cel mai mic conținut în lotul martor. (figura 5.29).

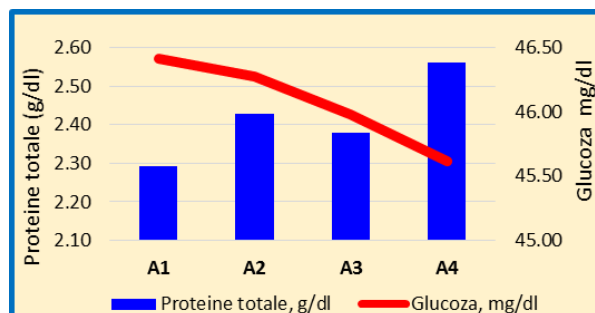


Figura 5.29. Variația proteinelor serice și a glucozei

V.3.4. Evaluarea compoziției biochimice a cărnii de pește

Evaluarea profilului biochimic al cărnii de pește reprezintă un indicator important pentru determinarea profilului nutritiv al peștilor, pentru aprecierea stării generale de întreținere a materialului piscicol, precum și a valorificării hranei.

La finalul experimentului, 5 exemplare din fiecare lot au fost sacrificate în vederea determinării compoziției biochimice. Analiza biochimică a cărnii, prezentată în figura 5.30, a indicat diferențe semnificative între lotul martor și loturile în care s-a administrat probiotic, în ceea ce privește conținutul de proteine, umiditate, lipide și cenușă ($p < 0,05$).

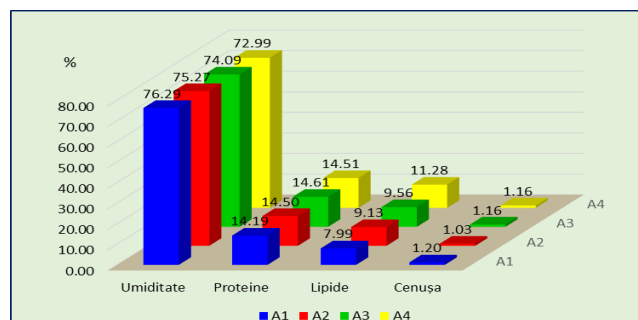


Figura 5.30. Compoziția biochimică a cărnii de nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) la finalul perioadei experimentale.

Creșterea **conținutului de proteină** în loturile experimentale poate fi rezultatul unei acumulări mai mari de substanțe nutritive în carne, datorită adaosului de probiotice, care au fost transformate în proteină în organismul peștilor (Savin et al., 2024).

Conținutul de lipide din carne a înregistrat diferențe semnificative la finalul experimentului între lotul martor și cele 3 loturi experimentale ($p < 0,05$).

În ceea ce privește **conținutul de apă**, toate loturile în care s-a adăugat probiotic în dietă au înregistrat o scădere a valorii umidității față de martor.

V.4. Concluzii

Concluziile care s-au deprins în urma desfășurării acestui experiment au fost următoarele:

- concentrațiile diferite de PC utilizate în hrana nisetruului siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) crescut în sistem recirculant nu au influențat parametri de calitate a apei, aceștia menținându-se în limite admise pentru creșterea lui;
- aditivarea furajului cu mixul de probiotice, denumit *Probiotic Complex*, a dus, în general, la îmbunătățirea performanței de creștere a nisetruului siberian crescut în condiții experimentale, în sistem recirculant de acvacultură, cei mai buni indici de creștere fiind obținuți la concentrația de 5×10^9 UFC, respectiv 200 mg PC/kg furaj;
- adaosul de probiotice a dus la îmbunătățirea indicilor hematologici ai nisetruului siberian. S-a observat o creștere a numărului de eritrocite, a concentrației de hemoglobină și a hematocritului în loturile experimentale, comparativ cu lotul martor.
- de asemenea, numărul de leucocite a fost îmbunătățit, sugerând o sporire a imunității peștilor din loturile tratate cu probiotice;

➤ parametri serici au fost influențați de concentrațiile de probiotice din furaj. Glucoza serică din loturile experimentale a scăzut față de martor, invers proporțional cu concentrația de probiotic. Același efect benefic a fost observat și în cazul proteinelor serice totale;

➤ analiza biochimică a cărnii de nisetră siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) a indicat o creștere a conținutului de lipide și proteine la aditivarea furajului cu mixul de probiotice. Cantitatea de apă și cenușă din țesutul muscular a scăzut concomitent cu creșterea cantității de probiotic adăugată în furaj.

Pe baza rezultatelor obținute și analizate în acest studiu, dar și prin prisma cercetărilor anterioare, se poate concluziona că probioticele pot avea un efect pozitiv asupra creșterii și bunăstării organismelor vii, inclusiv a peștilor.

În ceea ce privește succesul tratamentului, similar oricărui aditiv introdus în dietă, acesta depinde de diverși factori, inclusiv doza, tulpina utilizată, durata tratamentului, etc. Sunt necesare studii suplimentare ale acestor factori, în vederea maximizării efectelor benefice ale probioticelor în acvacultură.

CAPITOLUL VI - Cercetări privind rolul compușilor bioactivi din *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea* asupra creșterii și bunăstării crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), în sistem recirculant de acvacultură industrială

VI.1. Introducere

Acest experiment a fost conceput pe baza rezultatelor obținute în studiile anterioare, care au servit drept fundament pentru formularea ipotezei de cercetare pentru acest studiu. Prin acest studiu s-a dorit investigarea influenței compușilor bioactivi din cele două plante asupra creșterii și bunăstării crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) crescut într-un sistem recirculant de acvacultură. Alegerea acestui sistem de creștere s-a bazat pe beneficiile sale în menținerea unor condiții de mediu stabile și controlate, esențiale pentru studierea efectelor nutriționale și de sănătate. Studiul se concentrează pe evaluarea modului în care aceste suplimente vegetale bogate în compuși bioactivi acționează asupra ratei de creștere, utilizării nutrienților și bunăstării generale a crapului.

VI.2. Materiale și metode de lucru

VI.2.1. Sistemul de creștere și materialul biologic

Într-o cercetare anterioară, au fost analizate efectele concentrației de 0,5 % lemn dulce și echinacea, iar rezultatele au fost promițătoare. Totuși, evaluarea a fost limitată la o singură doză, ceea ce nu permite înțelegerea completă a potențialului acestor plante. Lemnul dulce și echinacea sunt bogate în compuși biologic activi, cu numeroase efecte benefice asupra sănătății animalelor. Pentru a explora aceste efecte, în studiul de față s-a dorit investigarea unor concentrații variate. Diversificarea concentrațiilor va permite identificarea celor mai eficiente doze, optimizând astfel utilizarea acestor aditivi în acvacultură.

Experimentul s-a desfășurat la I.C.D.E.A.P.A. Galați, într-un sistem recirculant de creștere de tip acvariu (figura 6.1). Constructiv, acest sistem a fost constituit din următoarele componente principale:

- unități de creștere
- unități de condiționare a apei, reprezentate de filtre externe Tetra EX 1200 Plus, cu 5 medii de filtrare diferite.

Unitățile de creștere au fost reprezentate de 7 acvarii din sticlă, cu dimensiunea de 100x40x40 cm, împărțite în 2 volume egale cu dimensiunile de 50x40x40 cm, rezultând în total 14 incinte.

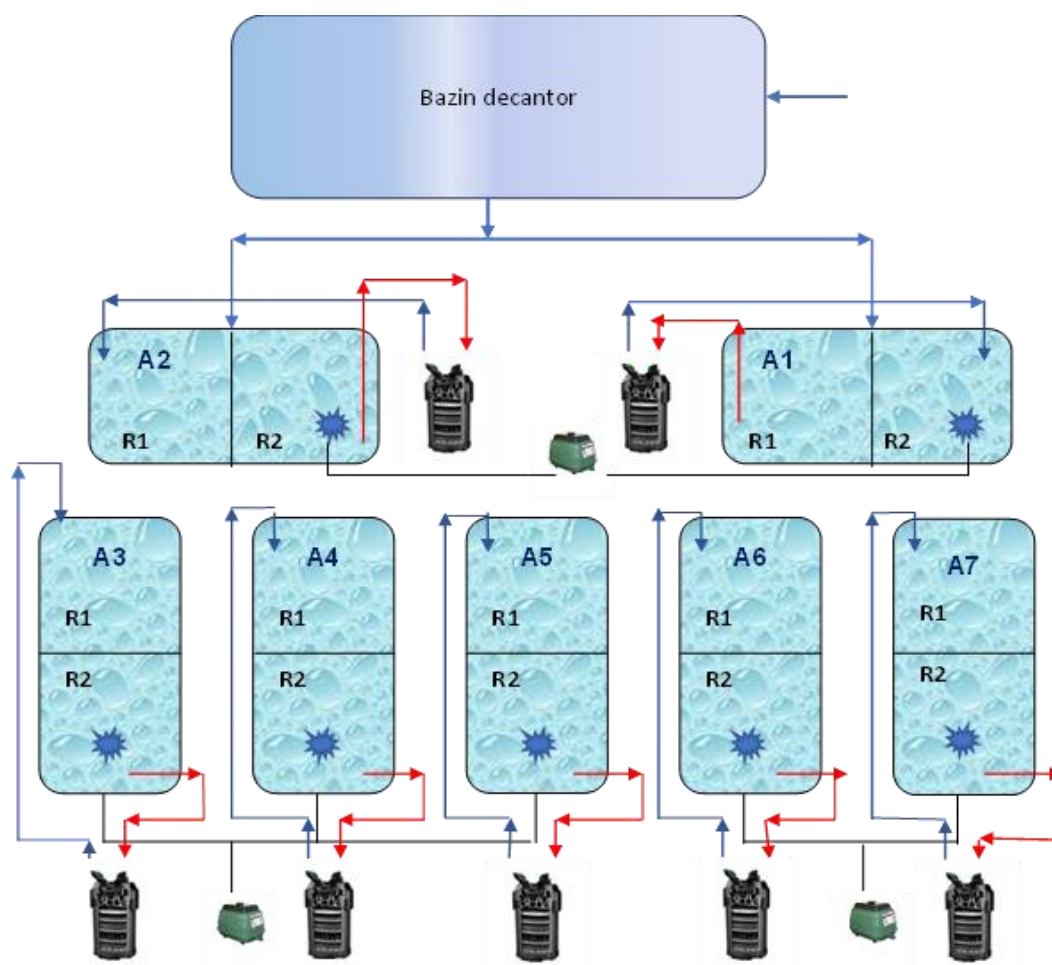


Figura 6.1. Schema tehnologică a sistemului recirculant

Perioada de derulare a experimentului a fost 9 mai 2022 – 11 iulie 2022 (63 de zile).

Materialul biologic a fost reprezentat de crapul comun (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), obținut în Laboratorul de Cercetări Agro-Pescărești Brateș al I.C.D.E.A.P.A. Galați. 140 de exemplare de crap, cu masa medie inițială de $46,39 \pm 3,17$ g, au fost distribuite aleatoriu în 14 incinte de creștere, câte 10 exemplare per incintă (figura 6.2).

Pentru realizarea dietelor experimentale s-au utilizat lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și echinacea (*Echinacea purpurea*).

Pentru desfășurarea acestui experiment au fost constituite 7 grupuri experimentale (figura 6.2.), în duplicat, în care au fost introduse extracte de lemn dulce și echinacea, preparate conform metodei descrise în capitolul IV.2.3, astfel:

- Grupul A1 (M) martor, la care s-a administrat doar furajul clasic
- Grupul A2 (Ld-0,25), la care dieta a fost suplimentată cu 0,25 % lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*)
- Grupul A3 (Ld-0,5), la care s-a adăugat 0,5 % lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) în furajul administrat
- Grupul A4 (Ld-1), la care s-a adăugat 1 % lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) în furaj
- Grupul A5 (E-0,25), la care s-a adăugat 0,25 % echinacea (*Echinacea purpurea*) în furaj
- Grupul A6 (E-0,5), la care s-a adăugat 0,5 % echinacea (*Echinacea purpurea*) în furaj
- Grupul A7 (E-1), la care s-a adăugat 1 % echinacea (*Echinacea purpurea*) în furaj

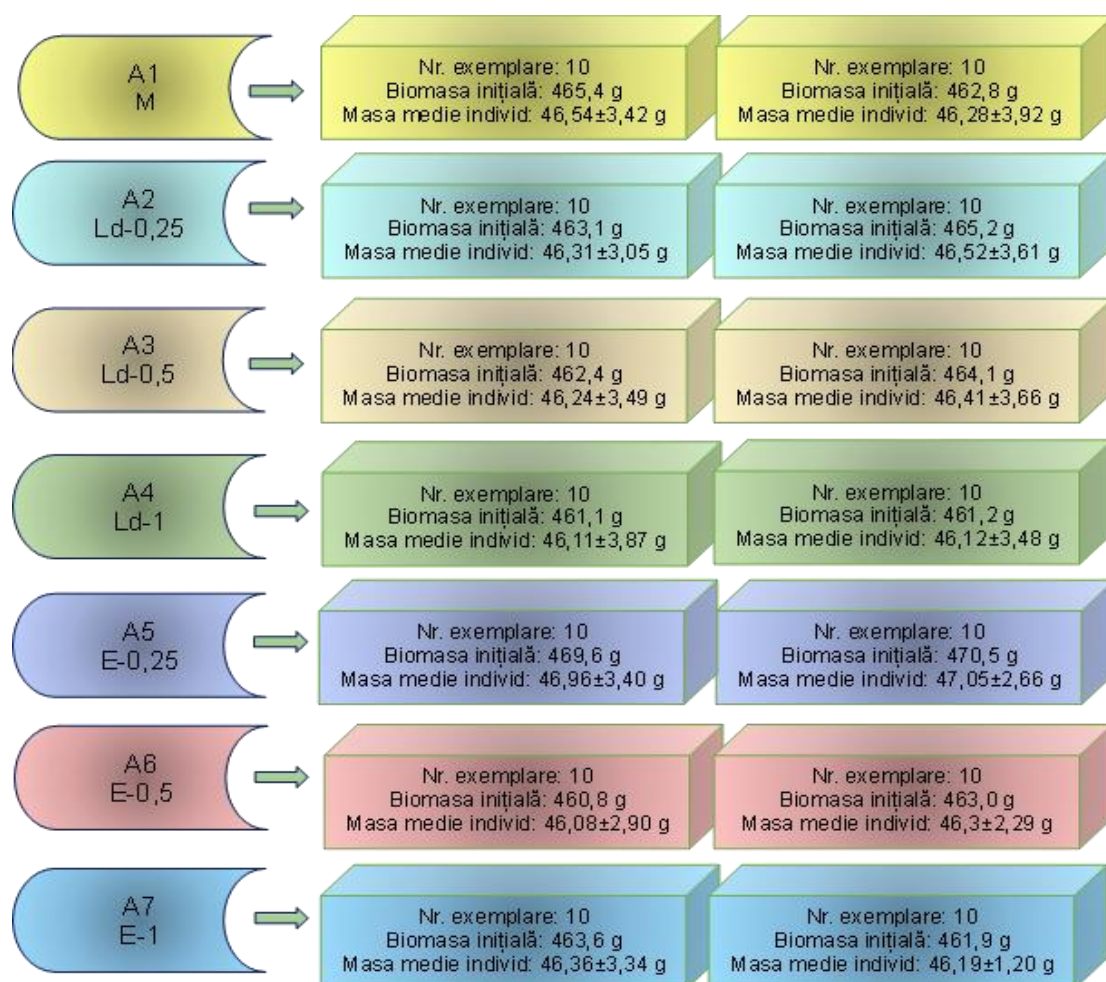


Figura 6.2. Schema de repartizare a materialului biologic

VI.2.2. Metode de determinare a parametrilor de calitate a apei și a performanței de creștere

Controlul unor parametri precum temperatura, oxigenul dizolvat, pH-ul și concentrația compușilor cu azot contribuie la un mediu stabil și sustenabil pentru acvacultură.

Determinarea temperaturii, oxigenului dizolvat și a pH-ului s-a realizat cu ajutorul multiparametrului HQ40D Hach Lange cu 2 canale de măsurare și 2 sonde, iar pentru determinarea compușilor cu azot, reprezentați de nitriți (NO_2^-), nitrați (NO_3^-), amoniac (NH_3) și ionii amoniu (NH_4^+), s-au folosit spectrofotometrul portabil DR1900 Hach Lange și kiturile LCK de la Hach Lange (tabel 19).

Tabelul nr. 19. Echipamentele utilizate pentru determinarea parametrilor de calitate a apei

Parametri de calitate a apei	Echipamentul utilizat	Interval de măsurare
Oxigen dizolvat (mg/l)	HQ40D Hach Lange	0,01-20,00 mg/l
Temperatura (°C)	HQ40D Hach Lange	0 - 60
pH (U pH)	HQ40D Hach Lange	0 - 14
NO_2 (mg/l)	Spectrofotometru DR 1900, Hach Lange + Kit NitriVer 2107169	0-0.50 mg/l
NO_3 (mg/l)	Spectrofotometru DR 1900, Hach Lange + kit LCK339	0,02-2,5 mg/l
NH_4^+ (mg/l)	Spectrofotometru DR 1900, Hach Lange + kit LCK304	0,02-2,5 mg/l

Pe baza datelor biometrice, au fost determinați următorii indicatori de performanță: sporul real de creștere (Sr), rata zilnică de creștere (GR), rata specifică de creștere (SGR), factorul de conversie a hranei (FCR), coeficientul de conversie proteică (PER). Pentru calculul acestor indicatori au fost folosite relațiile [1], [2], [3], [4], [5] descrise în capitolul III.

VI.2.3. Metode de investigarea a indicilor hematologici și biochimici serici

Metodele de lucru și echipamentele utilizate pentru determinarea indicilor hematologici sunt descrise detaliat în capitolul III (vezi III.2.6).

Parametrii biochimici analizați au fost proteinele totale, imunoglobulinele totale și glucoza.

Concentrația totală de imunoglobuline în plasmă a fost determinată după precipitarea probei cu reactiv PEG (polietilen glicol), după metoda descrisă de Siwicki și Anderson, 1993 [466] și modificată de Patriche T., 2008 [331].

VI.2.3.1. Determinarea activității lizozimului

Activitatea lizozimului a fost determinată din ser, iar pentru aceasta s-a utilizat protocolul de lucru EC 3.2.2.17 de la Sigma. Au fost folosiți următorii reactivi: soluție tampon de fosfat de potasiu (66 mM cu pH=6,24 la 25°C); substrat de *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, M3770) și soluție enzimatică de lizozim (Sigma, L6876).

VI.2.4. Metode de lucru pentru determinarea markerilor de stres oxidativ

VI.2.4.1. Determinarea concentrației de malondialdehidă (MDA)

Pentru dozarea malondialdehidei au fost folosiți următorii reactivi: soluție tampon Tris-HCl 1M, cu pH=7,4; acid tricloracetic 10 %; TBA (acid 2-tiobarbituric) 0,67 %.

Probele au fost omogenizate împreună cu 5 ml tampon Tris-HCl, apoi centrifugate la 5000 rpm, 30 de minute. Din supernatant au fost prelevați 0,5 ml, iar peste aceștia s-au adăugat 2,5 ml de acid tricloracetic, 10 %. Probele au fost supuse fierberii timp de 15 minute, apoi au fost răcite rapid, sub jet de apă rece. A urmat o nouă centrifugare la 5000 rpm, 10 minute. Peste 2 ml de supernatant s-au adăugat 1 ml de TBA, iar probele au fost agitate și fierte timp de 15 minute. După răcire, s-a format un complex de culoare roz (figura 6.4), densitatea optică a acestuia fiind citită la spectrofotometrul UV-VIS, la 532 nm. Proba martor se obține din 0,5 ml de TBA și 1 ml de tampon Tris-HCl, amestecul fiind fiert 15 minute.



Figura 6.4. Probe pentru citirea absorbanței la spectrofotometru (foto original)

VI.2.4.2. Determinarea capacității antioxidante totale (TAC)

Pentru determinarea capacității antioxidante totale a fost utilizată metoda descrisă de Re (1999).

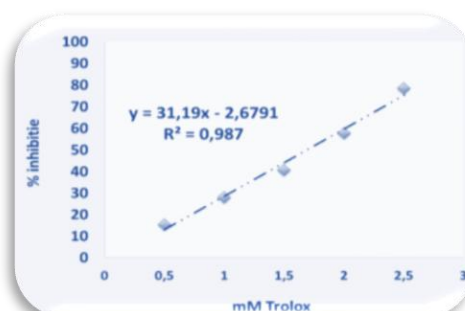
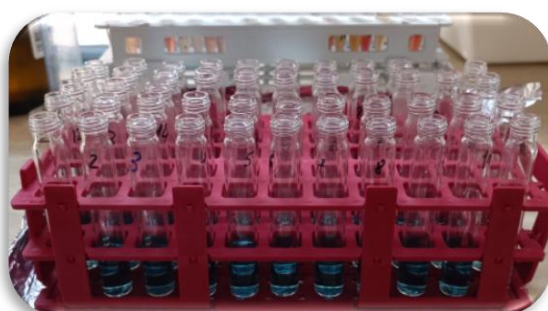


Figura 6.5. Probe pregătite pentru citirea TAC (foto original) și Curba de calibrare

VI.2.5. Metode de determinare a compoziției biochimice a cărnii de pește

Compoziția biochimică a cărnii de crap după tratamentul cu lemn dulce și echinacea a fost determinată conform metodelor descrise în capitolul III.2.7.

VI.3. Rezultate si discuții

Principalul obiectiv al acestei cercetări a fost evaluarea influenței administrării unor concentrații variate de extract de lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și echinacea (*Echinacea purpurea*) asupra creșterii și bunăstării crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) crescut în sistem recirculant de acvacultură. În acest scop, sistemul a fost populat cu 140 de exemplare de crap, cu masa medie inițială de 46,39±3,17 g.

VI.3.1. Parametri de calitate a apei

Pe parcursul celor 63 de zile de creștere, temperatura apei în unitățile de creștere s-a încadrat între 18,2°C și 25,3°C, menținându-se în limitele optime ale creșterii crapului și fără diferențe semnificative între variantele experimentale ($p=0,99$). Nivelurile de oxigen dizolvat au variat între 5,21 mg/l și 8,96 mg/l, ceea ce indică un aport adecvat de oxigen în toate variantele experimentale. În niciuna dintre variantele experimentale nu s-au înregistrat valori critice pentru puietul de crap.

Concentrațiile de nitriți (NO_2) au fost cuprinse între 0,001 mg/l și 0,3 mg/l, cu o medie de 0,11 mg/l (figura 6.8). Valorile înregistrate se situează peste limita admisă pentru creșterea peștilor. Pentru a preveni efectele toxice asupra peștilor, apa a fost primenită zilnic, în procent de 50 %, folosind apă dechlorinată, contribuind astfel la restabilirea echilibrului chimic al apei.

Concentrațiile de nitrați (NO_3) au variat între 0,26 mg/l și 2,26 mg/l, cu o medie de 1,11 mg/l (figura 6.9). Nu au fost observate diferențe semnificative din punct de vedere statistic între variantele experimentale ($p=0,998$).

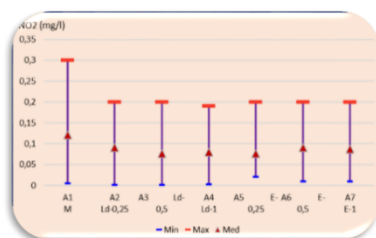


Figura 6.8. Valorile minime, medii și maxime ale nitriților (NO_2)

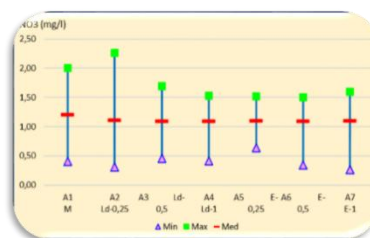


Figura 6.9. Valorile minime, medii și maxime ale nitraților (NO_3)

Parametrii fizico-chimici ai apei monitorizați au prezentat variații moderate în variantele experimentale, fără depășiri critice și fără diferențe semnificative statistic, ceea ce indică un control eficient al calității apei.

VI.3.2. Evaluarea performanței de creștere a materialului biologic

Rezultatele privind indicatorii de performanță tehnologică, obținute în urma cercetărilor, prelucrând datele inițiale și finale, sunt redată în tabelul 21.

Dinamica creșterii crapului în cele 7 grupuri experimentale a fost apreciată și prin analiza sporului de creștere a biomasei. Se observă o creștere a biomasei inferioară, comparativ cu matorul, în grupurile experimentale A2 (Ld-0,25), respectiv A5 (E-0,25), grupuri în care dieta a fost suplimentată cu 0,25 % lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), respectiv 0,25 % echinacea (figura 6.15).

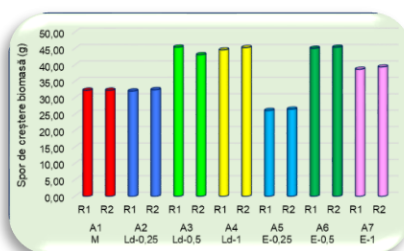


Figura 6.15. Sporul de creștere a biomasei în grupurile experimentale

Tabelul nr. 21. Indicatorii bioproductivi ai crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) hrănit cu diete cu compuși bioactivi din lemn dulce și echinacea

Parametri	A1 (M) media±SD	A2 (Ld-0,25) media±SD	A3 (Ld-0,5) media±SD	A4 (Ld-1) media±SD	A5 (E-0,25) media±SD	A6 (E-0,5) media±SD	A7 (E-1) media±SD
POPULARE							
Nr. exemplare	10	10	10	10	10	10	10
Biomasa inițială (g)	464,1±1,84	464,15±1,48	463,25±1,20	461,15±0,07	470,05±0,64	461,9±1,56	462,75±1,20
Masa medie individuală (g)	46,41±0,35	46,42±0,40	46,33±0,12	46,12±0,27	47,01±0,53	46,19±0,43	46,28±1,51
Densitatea inițială (kg/m3)	7,74±0,03	7,74±0,02	7,72±0,02	7,69±0,0	7,83±0,01	7,7±0,03	7,71±0,02
RECOLTARE							
Nr. exemplare	10	10	10	10	10	10	10
Supraviețuire (%)	100	100	100	100	100	100	100
Biomasa finală (g)	786,9±1,84	786,5±4,24	905,6±14,99	910,15±5,16	733±3,54	913,85±3,89	852,8±3,82
Masa medie individuală finală (g)	78,69±3,65	78,65±3,64	90,56±2,38	91,02±3,37	73,3±2,35	91,39±3,03	85,28±2,41
Densitatea finală (kg/m3)	13,12±0,03	13,11±0,07	15,09±0,25	15,17±0,09	12,22±0,06	15,23±0,06	14,21±0,06
PARAMETRI CREȘTERII							
Nr. zile creștere	63	63	63	63	63	63	63
Spor individual de creștere (g)	32,28±0,0	32,24±0,28	44,24±1,62	44,9±0,51	26,3±0,29	45,2±0,23	39,01±0,50
Sporul de creștere biomasă (g)	322,8±0,0	322,35±2,76	442,35±16,19	449±5,09	262,95±2,90	451,95±2,33	390,05±5,02
Total hrana distribuita, g	364,75±1,06	257,9±1,41	300,8±32,81	273,9±22,49	255,05±7,57	300,4±0,00	265,25±2,19
Factorul de conversie a hranei - FCR (g hrană/g spor creștere)	1,13±0,0	0,8±0,0	0,68±0,05	0,61±0,04	0,97±0,02	0,66±0,0	0,68±0,0
Rata zilnică de creștere (g/zi)	0,51±0,00	0,51±0,0	0,7±0,03	0,71±0,01	0,42±0,0	0,72±0,0	0,62±0,01
SGR (%/zi)	0,84±0,00	0,84±0,0	1,06±0,03	1,08±0,01	0,71±0,01	1,08±0,0	0,97±0,01

În acest experiment, atât adaosul de *Glycyrrhiza glabra*, cât și de *Echinacea purpurea* au influențat pozitiv parametrii de creștere. În cazul grupurilor experimentale în care furajul a fost aditivat cu compuși bioactivi din lemn dulce, cei mai buni parametri de creștere s-au înregistrat în lotul A4 (Ld-1), urmat de lotul A3 (Ld-0,5) și lotul A2 (Ld-0,25). În ceea ce privește grupurile aditivate cu compuși bioactivi din echinacea, parametrii de creștere superiori nu au mai fost dependenți de creșterea concentrației de aditiv din furaj, cele mai bune rezultate obținându-se în cazul lotului A6 (E-0,5), urmat de A7 (E-1) și A5 (E-0,25).

VI.3.3. Evaluarea indicilor hematologici

La finalul studiului au fost determinați următorii indici hematologici: numărul de eritrocite, hemoglobina, hematocritul și constantele eritrocitare VEM, HEM, CHEM, a căror valori, exprimate ca medie $\pm$ deviație standard, sunt prezentate în tabelul 22.

Tabelul nr. 22. Valorile indicilor hematologici ai crapului la finalul experimentului

	Eritrocite ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	VEM (μm^3)	HEM (pg)	CHEM (gHb/100 ml)
A1 - M	1,95 $\pm$ 0,07 ^b	11,20 $\pm$ 1,0 ^a	36,82 $\pm$ 1,52 ^a	190,11 $\pm$ 5,69 ^a	57,40 $\pm$ 5,27 ^b	30,40 $\pm$ 2,24 ^a
A2 Ld-0,25	1,85 $\pm$ 0,28 ^a	12,11 $\pm$ 1,09 ^a	36,88 $\pm$ 1,89 ^a	200,53 $\pm$ 34,93 ^a	66,30 $\pm$ 10,2 ^b	33,00 $\pm$ 4,27 ^a
A3 Ld-0,5	1,96 $\pm$ 0,16 ^b	12,08 $\pm$ 0,46 ^a	36,94 $\pm$ 0,59 ^a	190,11 $\pm$ 19,07 ^a	61,77 $\pm$ 3,75 ^b	32,72 $\pm$ 1,52 ^a
A4 Ld-1	1,97 $\pm$ 0,19 ^b	11,94 $\pm$ 0,25 ^a	36,90 $\pm$ 3,35 ^a	195,81 $\pm$ 20,48 ^a	61,04 $\pm$ 5,1 ^b	32,64 $\pm$ 3,57 ^a
A5 E-0,25	1,85 $\pm$ 0,13 ^a	12,20 $\pm$ 1,40 ^a	36,83 $\pm$ 1,13 ^a	198,33 $\pm$ 11,57 ^a	66,23 $\pm$ 9,47 ^b	33,21 $\pm$ 4,47 ^a
A6 E-0,5	1,94 $\pm$ 0,10 ^b	11,31 $\pm$ 0,26 ^a	37,02 $\pm$ 1,57 ^a	189,42 $\pm$ 16,62 ^a	58,40 $\pm$ 2,72 ^b	30,59 $\pm$ 1,24 ^a
A7 E-1	2,14 $\pm$ 0,30 ^b	11,29 $\pm$ 0,46 ^a	37,34 $\pm$ 4,47 ^a	175,54 $\pm$ 21,03 ^a	53,37 $\pm$ 7,29 ^a	30,56 $\pm$ 3,52 ^a

Litere diferite pe coloană indică diferențe semnificative între grupurile experimentale; Hb-hemoglobina; Ht-hematocrit;

După 63 de zile de tratament, analiza statistică nu a indicat diferențe semnificative ($p>0,05$) în ceea ce privește numărul de eritrocite, hemoglobina și hematocritul între grupurile experimentale.

Răspunsul imun al puietului de crap după 63 de zile de tratament cu lemn dulce și echinacea este prezentat în tabelul 23.

Tabelul nr. 23. Variația leucocitelor în perioada experimentală

Grup experimental	WBC (cel. $\times 10^3/\mu\text{l}$)	Limfocite %	Monocite %	Neutrofile %	Eozinofile %
A1 M	47,94 $\pm$ 0,17 ^a	76,09 $\pm$ 0,10 ^a	5,42 $\pm$ 0,08 ^a	17,43 $\pm$ 0,08 ^a	1,01 $\pm$ 0,04 ^a
A2 Ld-0,25	50,2 $\pm$ 0,14 ^b	76,36 $\pm$ 0,14 ^b	5,69 $\pm$ 0,05 ^b	16,46 $\pm$ 0,08 ^b	1,15 $\pm$ 0,04 ^b
A3 Ld-0,5	50,32 $\pm$ 0,03 ^b	76,51 $\pm$ 0,06 ^c	5,72 $\pm$ 0,03 ^b	16,63 $\pm$ 0,08 ^c	1,12 $\pm$ 0,06 ^b
A4 Ld-1	50,34 $\pm$ 0,03 ^b	76,83 $\pm$ 0,02 ^d	5,56 $\pm$ 0,04 ^c	16,58 $\pm$ 0,03 ^c	1,02 $\pm$ 0,04 ^a

Grup experimental	WBC (cel. *10 ³ /μl)	Limfocite %	Monocite %	Neutrofile %	Eozinofile %
A5 E-0,25	50,27±0,03 ^c	76,01±0,02 ^e	5,75±0,02 ^d	17,41±0,02 ^a	0,80±0,03 ^c
A6 E-0,5	50,83±0,07 ^d	75,98±0,05 ^e	5,80±0,05 ^d	17,48±0,05 ^a	0,76±0,03 ^c
A7 E-1	51,48±0,03 ^e	75,86±0,04 ^f	5,95±0,02 ^e	17,61±0,02 ^d	0,56±0,05 ^d

La finalul experimentului, rezultatele au evidențiat diferențe semnificative în ceea ce privește numărul total de leucocite între martor și grupurile experimentale ($p < 0,05$).

Numărul de celule albe din sângele puietului de crap hrăniți cu diferite concentrații de lemn dulce a crescut ușor, pe măsură ce concentrația acestui aditiv a crescut, fără să se înregistreze diferențe semnificative ($p > 0,05$). Cel mai mare număr de leucocite a fost obținut în A4 (Ld-1) ($50,34 \pm 0,03$), iar cel mai mic în A2 (Ld-0,25) ($50,2 \pm 0,14$). În plus, procentele de limfocite și monocite au fost semnificativ mai mari la peștii care au primit diete cu diferite concentrații de lemn dulce, comparativ cu dieta de control A1 (M), iar neutrofilele au scăzut comparativ cu martorul (figura 6.25).

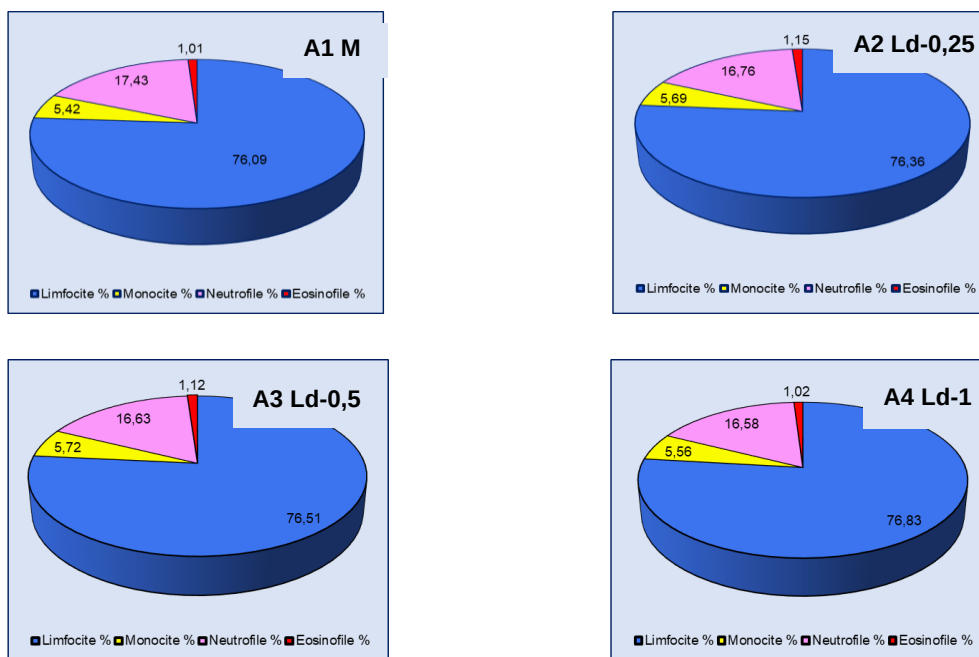


Figura 6.25. Distribuția procentuală a celulelor albe în sângele crapului, la finalul experimentului, în grupurile suplimentate cu *Glycyrrhiza glabra*

În grupurile experimentale hrănite cu diete cu echinacea (A5 – A7), numărul de leucocite a crescut, pe măsură ce concentrația de echinacea a fost mărită. Cel mai mare număr de leucocite a fost obținut în A7 (E-1) ($51,48 \pm 0,03$), fiind cu 7,39 % mai mare decât în martor, iar cel mai mic în A5 (E-0,25) ($50,27 \pm 0,03$), cu 4,86 % mai mic decât în martor.

Distribuția procentuală a leucocitelor în aceste grupuri experimentale a indicat o scădere a limfocitelor, dar și a eozinofilelor, odată cu creșterea dozei de echinacea. De asemenea, s-a observat creșterea monocitelor, comparativ cu martorul (figura 6.26).

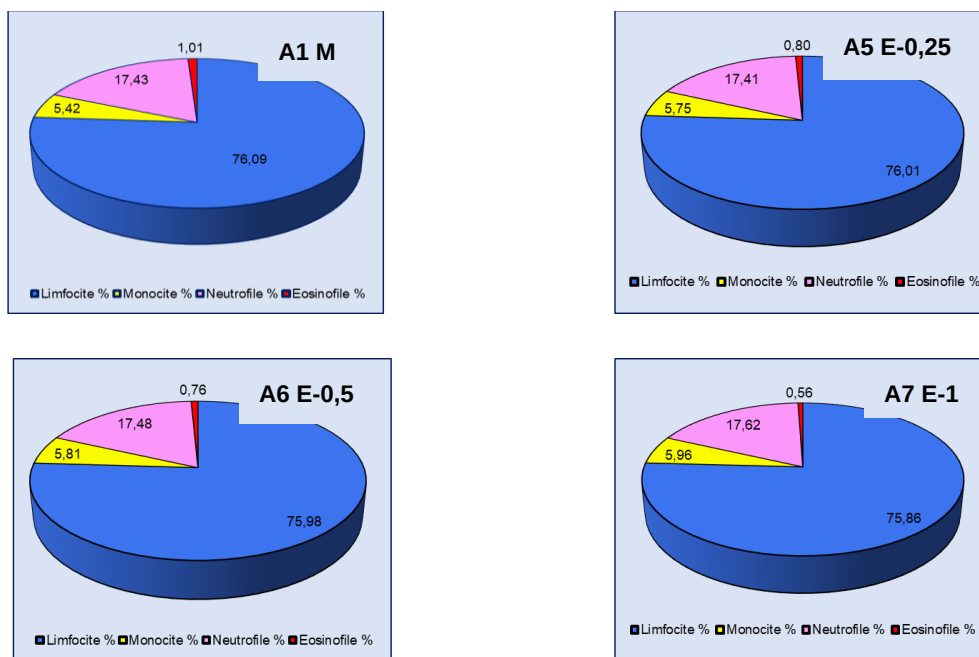


Figura 6.26. Distribuția procentuală a celulelor albe în sângele crapului, la finalul experimentului, în grupurile suplimentate cu *Echinacea purpurea*

VI.3.4. Evaluarea indicilor biochimici serici

Rezultatele obținute sunt prezentate ca medie $\pm$ deviație standard, în tabelul 24, evidențiind tendințele și variațiile parametrilor observați în cadrul cercetării.

Tabelul nr. 24. Valorile parametrilor serici la finalul experimentului

Grup experimental	Proteine totale (g/100 ml)	Imunoglobuline totale (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)
A1 M	5,91 $\pm$ 0,08 ^b	99,2 $\pm$ 10,8 ^a	97,4 $\pm$ 9,03 ^b
A2 Ld-0,25	5,92 $\pm$ 0,22 ^b	109,6 $\pm$ 15,55 ^a	92,2 $\pm$ 21,65 ^b
A3 Ld-0,5	5,92 $\pm$ 0,29 ^b	113,38 $\pm$ 15,29 ^a	61,4 $\pm$ 13,46 ^a
A4 Ld-1	5,6 $\pm$ 0,63 ^b	116,2 $\pm$ 17,75 ^a	55,78 $\pm$ 7,84 ^a
A5 E-0,25	5,26 $\pm$ 0,91 ^a	126,2 $\pm$ 11,73 ^b	59,6 $\pm$ 8,02 ^a
A6 E-0,5	5,99 $\pm$ 0,11 ^b	129,2 $\pm$ 4,87 ^b	96,2 $\pm$ 9,31 ^b
A7 E-1	6,20 $\pm$ 0,09 ^b	131,0 $\pm$ 9,38 ^b	96,6 $\pm$ 27,75 ^b

Valoarea **proteinelor totale** nu a înregistrat diferențe semnificative la aditivarea hranei cu compuși bioactivi din lemn dulce și echinacea ($p > 0,05$). Comparativ cu martorul, valorile din loturile A2, A3, A4, tratate cu diferite concentrații de lemn dulce și cele din A6 și A7, tratate cu 0,5 %, respectiv 1 % echinacea au crescut ușor. Valori mai mici comparativ cu martorul s-au obținut în lotul A5 (E-0,25) (5,26 $\pm$ 0,91 g/100 ml) (figura 6.27).

Referitor la valorile **imunoglobulinelor totale**, se observă o tendință clară de creștere a acestora în cazul tratamentelor cu compuși bioactivi, creșterea fiind proporțională cu mărirea concentrației de aditiv (figura 6.28).

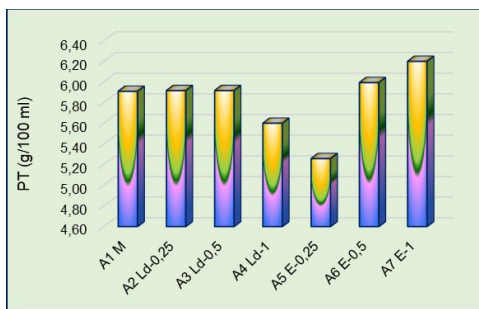


Figura 6.27. Valorile proteinelor totale la finalul experimentului

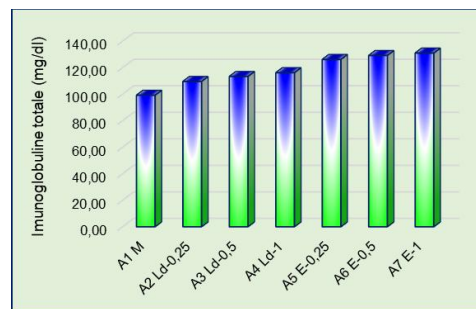


Figura 6.28. Valorile imunoglobulinelor la finalul experimentului

Glucosa serică a scăzut în toate grupurile în care s-au administrat compuși bioactivi, comparativ cu lotul martor, fiind semnificativ mai mică în loturile A3 (Ld-0,5) și A4 (Ld-1) (figura 6.29).

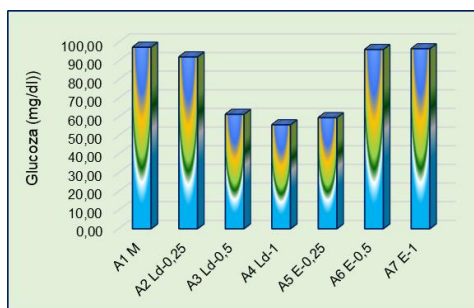


Figura 6.29. Valorile glucozei serice la finalul experimentului

VI.3.4.1. Evaluarea activității lizozimului

În studiul de față, activitatea lizozimului a fost îmbunătățită semnificativ de către lemnul dulce și echinacea în comparație cu martorul. Între grupurile tratate cu diferite concentrații de lemn dulce (A2 – A4) nu au fost observate diferențe semnificative ($p=0,718$). În schimb, grupurile tratate cu echinacea în diferite concentrații au prezentat diferențe semnificative ($p<0,05$), cea mai mare creștere a activității lizozimului fiind observată în A7 (E-1) ($11,44\pm0,47$ U/ml) (figura 6.30).

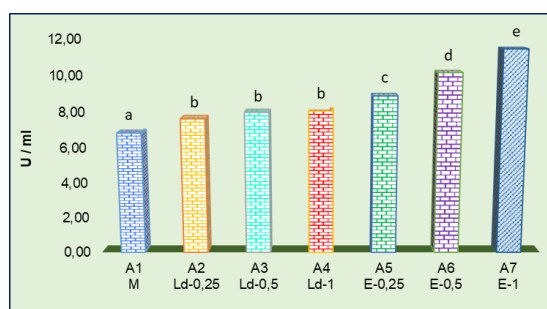


Figura 6.30. Variația lizozimului în grupurile experimentale

Flavonoidele conținute de *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea* sunt recunoscute ca stimulatori ai sistemului imunitar, care amplifică activitatea lizozimului.

VI.3.5. Evaluarea stresului oxidativ, a capacității antioxidante

Evaluarea stresului oxidativ la pești este importantă pentru înțelegerea impactului dietei asupra sănătății lor. Tabelul 25 prezintă valorile medii ale concentrațiilor de MDA și TAC după 63 de zile de tratament cu diete suplimentate cu compuși bioactivi din lemn dulce și echinacea.

Tabelul nr.25. Valorile malondialdehidei și capacității antioxidante totale la crapul (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) hrănit cu lemn dulce și echinacea

Grupuri experimentale	MDA (mM/ml plasmă)	TAC (mM TROLOX/ml plasmă)	TAC (mM TROLOX/g ficat)
A M	6,05±0,19 ^a	1,57±1,02 ^a	14,56±3,96 ^a
A2 Ld-0,25	5,24±0,38 ^b	2,48±0,36 ^b	13,77±1,84 ^a
A3 Ld-0,5	5,21±0,76 ^b	2,54±0,28 ^b	17,56±1,91 ^b
A4 Ld-1	5,50±0,60 ^b	3,25±0,38 ^c	24,07±2,51 ^c
A5 E-0,25	5,44±0,57 ^b	3,11±0,16 ^c	15,66±2,19 ^a
A6 E-0,5	5,56±0,38 ^b	3,47±0,28 ^c	18,02±4,07 ^b
A7 E-1	4,73±0,81 ^c	3,00±0,10 ^c	25,94±1,48 ^c

După 63 de zile de creștere, s-a observat că suplimentarea dietei puietului de crap cu doze diferite de lemn dulce și echinacea a inhibat fenomenul de peroxidare lipidică, fapt pus în evidență de scăderea semnificativă a concentrației de MDA din plasma peștilor ($p < 0,05$), în comparație cu grupul de control. Valorile MDA au fost influențate de dietele cu compuși bioactivi, observându-se scăderi semnificative în toate grupurile hrănite cu diete experimentale. Cea mai mică valoare a MDA a fost obținută în lotul A7 (E-1) ($4,73 \pm 0,81$ mM/ml) (figura 6.31).

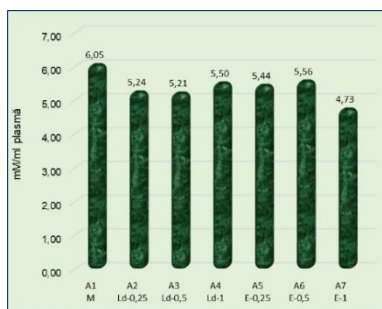


Figura 6.31. Variația concentrației de MDA în la finalul studiului

Capacitatea antioxidantă totală (TAC) din plasma crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), dar și cea din ficat, a fost influențată semnificativ ($p < 0,05$) de dietele cu compuși bioactivi din lemn dulce, respectiv echinacea. Creșterea concentrației de aditiv în dietă a fost asociată cu o creștere a capacității antioxidante totale (TAC) în plasma peștilor (figura 6.32).

Capacitatea antioxidantă totală din ficat a fost semnificativ îmbunătățită în urma adaosului de compuși bioactivi în dietă. Diferențe semnificative statistic ($p < 0,05$) au fost observate între grupul martor și grupurile în care dieta a fost suplimentată cu compuși bioactivi din lemn dulce sau echinacea, la concentrații de 0,5 % și 1 % (figura 6.33).

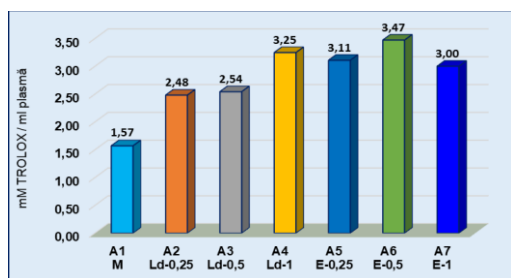


Figura 6.32. Variația TAC în plasma puietului de crap

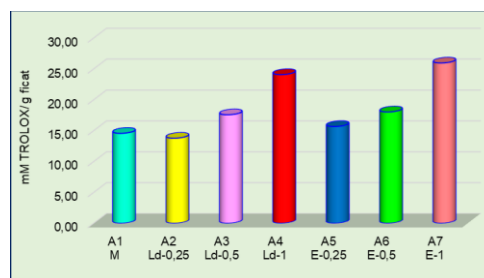


Figura 6.33. Variația TAC în ficatul puietului de crap

Studiul a demonstrat un răspuns antioxidant semnificativ în rândul peștilor hrăniți cu diete îmbogățite cu lemn dulce și echinacea, în funcție de concentrația aditivului utilizat. Capacitatea antioxidantă totală (TAC) a crescut semnificativ la concentrațiile de 0,5 % și 1 % ale acestor aditivi.

VI.3.6. Evaluarea compoziției biochimice a cărnii

Compoziția biochimică a cărnii de crap la finalul experimentului este relatată în tabelul 26.

Tabelul nr. 26. Compoziția biochimică a crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) hrănit cu compuși bioactivi din *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea*

	Proteina (%)	Lipide (%)	Umiditate (%)	Cenușa (%)
A1 (M)	17,10±0,09 ^a	3,23±0,10 ^a	77,45±0,06 ^a	2,10±0,02 ^a
A2 (0,25 % Ld)	17,32±0,03 ^b	3,43±0,04 ^b	77,03±0,03 ^b	2,13±0,05 ^b
A3 (0,5 % Ld)	17,37±0,04 ^d	3,35±0,04 ^b	76,92±0,09 ^c	2,10±0,01 ^a
A4 (1 % Ld)	17,44±0,04 ^d	3,27±0,04 ^a	76,91±0,03 ^c	2,14±0,01 ^b
A5 (0,25 % E)	17,25±0,06 ^c	3,24±0,03 ^a	76,98±0,07 ^c	2,10±0,03 ^a
A6 (0,5 % E)	17,40±0,02 ^d	3,23±0,08 ^a	76,78±0,43 ^c	2,08±0,02 ^a
A7 (1 % E)	17,10±0,09 ^a	3,23±0,10 ^a	77,45±0,05 ^a	2,10±0,02 ^a

➤ **Conținutul de proteine** a fost influențat de dietele suplimentate cu lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și echinacea (*Echinacea purpurea*), cu diferențe semnificative între grupurile experimentale ($p < 0,05$).

➤ Suplimentarea dietei cu diferite concentrații de echinacea nu a modificat semnificativ **conținutul de lipide** din carnea crapului ($p > 0,05$).

➤ **Umiditatea** a înregistrat o scădere semnificativă ($p < 0,05$) în grupurile experimentale, comparativ cu grupul martor.

➤ În ceea ce privește **conținutul de cenușă**, diferențele înregistrate între grupurile experimentale și grupul martor nu au fost semnificative ($p > 0,05$).

VI.4. Concluzii

Pe baza rezultatelor obținute în acest experiment, se pot extrage următoarele concluzii:

☑ peștii hrăniți cu diete suplimentate cu extracte de *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea* au prezentat o creștere somatică semnificativ mai mare comparativ cu grupul martor. Acest lucru sugerează că suplimentele vegetale au îmbunătățit eficiența conversiei furajului și metabolismul peștilor.

☑ cel mai mare spor de creștere a biomasei în grupurile în care s-a administrat lemn dulce s-a obținut în grupul A4 (Ld-1), urmat de A3 (Ld-0,5). Dintre grupurile tratate cu echinacea, cea mai mare creștere s-a înregistrat în A6 (E-0,5), urmată de A7 (E-1).

☑ eficiența dietelor cu compuși bioactivi s-a dovedit a fi mai bună în grupurile experimentale, cel mai mic FCR fiind înregistrat în A4 (Ld-1) ($0,61 \pm 0,04$), urmat de A6 (E-0,5) ($0,66 \pm 0,00$), A3 (Ld-0,5) ($0,68 \pm 0,05$) și A7 (E-1) ($0,68 \pm 0,00$), sugerând astfel cea mai bună conversie a hranei în masă corporală în aceste grupuri.

☑ analizele hematologice au indicat creșterea ușoară a numărului de eritrocite în grupurile tratate cu 0,5 și 1 % lemn dulce, precum și în grupul în care furajul a fost suplimentat cu 1 % echinacea.

☑ o creștere semnificativă a numărului de leucocite a fost observată în toate grupurile experimentale, ceea ce indică o stimulare a imunității specifice și nespecifice, confirmând potențialul imunomodulator al compușilor bioactivi din *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea*.

☑ Sistemul imunitar al peștilor a fost sensibil influențat de compușii din lemn dulce și echinacea, fapt confirmat de creșterea semnificativă a activității lizozimului. Cea mai mare valoare a activității lizozimului s-a înregistrat în A7 (E-1), fiind cu aproape 68 % mai mare decât cea din grupul martor

☑ Markerii de stres oxidativ, precum malondialdehida (MDA), au fost semnificativ mai scăzuți în grupurile experimentale hrănite cu diferiți compuși bioactivi. De exemplu, nivelul MDA a fost de $4,73 \pm 0,81$ nmol/ml în grupul A7 (E-1), comparativ cu $16,05 \pm 0,19$ nmol/ml în grupul martor.

☑ Analizând compoziția biochimică a cărnii, s-a observat o ușoară creștere a conținutului de proteine, concomitent cu scăderea umidității din carne.

Rezultatele acestor cercetări demonstrează că suplimentarea dietei crapului cu extracte din *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea* are un impact pozitiv semnificativ asupra creșterii, sănătății și bunăstării peștilor.

CAPITOLUL VII - Concluzii generale, contribuții proprii și perspective de cercetare

Rezultatele obținute în urma cercetărilor susțin următoarele concluzii:

➡ utilizarea complexului de probiotice PC ca aditiv atât în hrana crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), cât și a nisetului siberian (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) nu a influențat semnificativ parametrii de calitate a apei tehnologice, aceștia fiind menținuți în limitele admise pentru creșterea optimă a celor două specii de pești;

➡ aplicarea aceluiasi probiotic la două specii de pești diferite a condus la rezultate în general comparabile, susținând astfel consistența și potențială aplicabilitate a probioticelor administrate în dieta peștilor studiați. Astfel, ritmul de creștere al biomasei de cultură, în cazul ambelor specii, a indicat un spor de creștere superior în cazul variantelor experimentale tratate cu PC, comparativ cu varianta martor.

➡ complexul de probiotice (PC) a contribuit la îmbunătățirea digestiei în cazul celor două specii de pești și la valorificarea superioară a nutrienților din hrană, remarcată prin reducerea valorii factorului de conversie a hranei (FCR), concomitent cu sporirea valorii indicelui de eficiență proteică (PER) și a ratei specifice de creștere (SGR).

➡ analiza comparativă a indicilor hematologici și biochimici la cele două specii studiate a indicat răspunsuri fiziologice pozitive ale acestora, funcție de concentrația de *Probiotic Complex* (PC) suplimentată în dietă, cu variații specifice fiecărei specii. Datorită capacității probioticelor de a echilibra microbiota intestinală și de a îmbunătăți digestia, putem spune că în organismul peștilor s-a realizat o bună absorbție a nutrienților din hrană și, deci, și a vitaminelor, unele dintre acestea fiind implicate în hematopoieză, crescând astfel numărul de eritrocite și concentrația de hemoglobină.

În ansamblu, rezultatele obținute privind utilizarea probioticelor, mai exact a produsului *Probiotic complex* (PC), constituit dintr-un mix de bacterii din genurile *Lactobacillus* și *Bifidobacterium* în hrana peștilor, susțin utilizarea acestora ca fiind o strategie eficientă pentru menținerea parametrilor de calitate ai mediului, optimizarea creșterii și menținerea bunăstării peștilor în sistemele recirculante de acvacultură industriale. Eficiența probioticelor suplimentate în hrană, în diferite concentrații, confirmată la două specii de pești cu profiluri biologice diferite, indică faptul că această abordare poate fi eficientă la specii diferite, contribuind la dezvoltarea unei acvaculturi sustenabile.

Cercetările privind nutriția puietului de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) cu diete suplimentate cu compuși bioactivi din lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), echinacea (*Echinacea purpurea*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*), în concentrație de 0,5%, a permis evaluarea comparativă a influenței acestora asupra performanței productive, a stării de sănătate și calității cărnii de crap. Pe baza rezultatelor obținute la finalul cercetării, au fost formulate următoarele concluzii :

➡ toți fitocompușii testați au prezentat efecte benefice asupra performanței de creștere a puietului de crap, obținându-se indicatori bioproductivi superiori, comparativ cu lotul martor;

➡ pe parcursul experimentului nu au fost semnalate modificări fiziopatologice care să indice o alterare a sănătății peștilor, ceea ce sugerează faptul că cei trei fitocompuși, în concentrație de 0,5%, au fost bine tolerați de organism;

➡ administrarea în dieta puietului de crap a celor trei aditivi vegetali - lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), echinacea (*Echinacea purpurea*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*) - în

concentrație de 0,5% a evidențiat un efect pozitiv asupra sănătății peștilor, confirmat prin evaluări hematologice și biochimice. Concentrația de hemoglobină, ușor mai crescută în loturile experimentale, semnifică faptul că oxigenarea țesuturilor este mai eficientă;

➡ rezultatele privind indicii hematologici și biochimici serici ai peștilor indică o rezistență sporită la stres și intensificare a proceselor metabolice la nivelul țesuturilor, datorită proprietăților antioxidante și imunostimulatoare a compușilor bioactivi din cei trei fitoaditivi administrați în hrana peștilor;

➡ analiza compoziției biochimice a cărnii a evidențiat creșterea conținutului de proteine în carnea crapului hrănit cu furaj suplimentat cu compuși bioactivi din lemn dulce, echinacea și cimbrisor, ceea ce sugerează o intensificare a sintezei proteice sub acțiunea compușilor bioactivi. Acest rezultat indică îmbunătățirea calității nutriționale a cărnii de pește, având un impact pozitiv asupra sănătății consumatorului.

Prin urmare, regimul nutrițional aplicat, bazat pe compușii bioactivi existenți în lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), echinacea (*Echinacea purpurea*) și cimbrisor (*Thymus serpyllum*), aplicați în doza unică de 0,5%, a dovedit un efect benefic asupra creșterii și stării generale de sănătate în cazul puietului de crap (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758). Mai mult, rezultatele demonstrează că acești aditivi naturali, prin acțiunile lor antioxidante, antimicrobiene și imunomodulatoare, reprezintă o alternativă viabilă la substanțele de sinteză utilizate în acvacultură, susținând atât productivitatea, cât și siguranța alimentară a consumatorului.

Rezultatele obținute în cel de-al patrulea experiment, privind *efectul compușilor bioactivi din Glycyrrhiza glabra și Echinacea purpurea asupra creșterii și bunăstării crapului (Cyprinus carpio, Linnaeus 1758)*, într-un sistem recirculant de acvacultură furnizează date relevante despre influența diferitelor doze din acești fitocompuși asupra performanței de creștere, eficienței nutriționale și stării de sănătate a peștilor. Aceste rezultate evidențiază potențialul fitocompușilor de a spori parametrii productivi și biologia peștilor în sistemele recirculante de acvacultură. Cercetarea a evidențiat următoarele concluzii relevante:

➡ administrarea extractelor de *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea* în dieta crapului (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) a avut o influență pozitivă asupra performanței de creștere a acestuia, cele mai bune rezultate înregistrându-se la concentrații de 0,5% și 1%, atât în cazul lemnului dulce, cât și al echinaceei. Cea mai mică concentrație de aditiv utilizată, aceia de 0,25%, s-a dovedit a fi insuficientă pentru a produce efecte semnificative asupra performanței de creștere, subliniind necesitate stabilirii dozei optime;

➡ rezultatele privind indicii hematologici și parametrii biochimici serici au arătat o tendință ascendentă a acestora, odată cu mărirea concentrației de aditiv, sugerând o stare fiziologică mai bună și un sistem imunitar stimulat, mai ales prin creșterea ușoară a numărului de globule albe, a imunoglobulinelor totale;

➡ Sistemul imunitar al peștilor a răspuns pozitiv sub acțiunea compușilor bioactivi prezenți în *Glycyrrhiza glabra* și *Echinacea purpurea*, aspect confirmat de creșterea semnificativă a activității lizozimului în toate variantele experimentale. Totuși, compușii bioactivi din *Echinacea purpurea* au avut un efect mai intens asupra activității lizozimului;

➡ Nivelurile mai scăzute ale malondialdehidei (MDA), comparativ cu martorul, precum și valorile crescute ale capacității antioxidante totale (TAC), indică reducerea stresului oxidativ în variantele experimentale tratate cu lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și echinacea (*Echinacea purpurea*);

Considerăm că această teză de doctorat se remarcă printr-o analiză complexă a efectelor unor aditivi funcționali (complex de probiotice și compuși bioactivi vegetali) asupra a

două specii de pești – crapul (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) și nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt 1869), în condiții experimentale intensive realizate la scară mică de laborator, cu mențiunea că aceste condiții pot fi extrapolate și la nivel industrial.

Un element de originalitate poate fi considerat, în primul rând, testarea paralelă a complexului de probiotice și a compușilor bioactivi vegetali asupra aceleiași specii de pești - crapul (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), ceea ce a permis analiza comparativă directă între cele două grupe de aditivi.

Un alt aspect de noutate este reprezentat de testarea complexului de probiotice la o specie de sturion alohtonă – nisetru siberian (*Acipenser baerii*, Brandt 1869), ceea ce a permis evaluarea eficienței acestuia din punct de vedere al variabilei „specie”, un aspect puțin documentat în literatura de specialitate.

De asemenea, alegerea designului experimental pentru fiecare dintre cele patru cercetări experimentale realizate reprezintă o contribuție personală importantă. Testarea lemnului dulce (*Glycyrrhiza glabra*) și a echinaceei (*Echinacea purpurea*) la trei niveluri de concentrație a reliefat date importante despre relația doză – efect, oferind informații importante despre dozele optime pentru utilizarea în dietele peștilor. Complexitatea analizelor efectuate, reprezentate de determinarea parametrilor de creștere, a indicilor hematologici, biochimici serici și de stres oxidativ, precum și determinarea calității nutriționale a cărnii, adaugă un caracter interdisciplinar acestor cercetări, oferind o viziune de ansamblu asupra impactului nutriției funcționale.

Prin aceste aspecte, lucrarea aduce o contribuție originală cu privire la înțelegerea efectelor aditivilor funcționali în acvacultură și oferă fundamente științifice aplicabile în dezvoltarea strategiilor de hrănire sustenabilă pentru speciile de pești de interes economic studiate.

Totuși, se impune continuarea cercetărilor în acest domeniu, iar în acest sens propun următoarele direcții de cercetare, de interes pentru acvacultură:

➡ realizarea de cercetări pe termen lung și în condiții industriale, pentru validarea efectelor probiotice și a compușilor vegetali bioactivi în medii de producție reale (ferme de acvacultură);

➡ investigarea efectelor sinergice ale combinării compușilor vegetali bioactivi cu probioticele;

➡ testarea acestor aditivi funcționali și pe alte specii de pești, în vederea edificării anumitor aspecte ce converg din concluziile cercetărilor realizate și adaptarea strategiilor nutriționale la cerințele speciilor cu valoare economică ridicată, pretabile acvaculturii sustenabile.

Cercetările realizate în cadrul acestei teze de doctorat contribuie la completarea informațiilor științifice și aplicabile privind utilizarea aditivilor alimentari reprezentați prin complexul de probiotice (genurile *Lactobacillus* și *Bifidobacterium*) și compuși bioactivi vegetali (*Glycyrrhiza glabra*, *Echinacea purpurea*, *Thymus serpyllum*) în hrana peștilor luați în studiu, precum și la evaluarea efectelor exercitate asupra performanței productive, fiziologiei și stării de sănătate a peștilor.

Bibliografie selectivă

1. Abidin, Z. U., Hassan, H. U., Masood, Z., Rafique, N., Paray, B. A., Gabol, K., Shah, M. I. A., Gulnaz, A., Ullah, A., Zulfiqar, T., & Siddique, M. A. M. (2022). Effect of dietary supplementation of Neem, *Azadirachta indica* leaf extracts on enhancing the growth performance, chemical composition and survival of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(4), 3075–3081. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.01.046>
2. Amenyogbe, E., Huang, J., Chen, G., & Wang, W. (2021). Probiotic Potential of Indigenous (*Bacillus* sp. RCS1, *Pantoea agglomerans* RCS2, and *Bacillus cereus* strain RCS3) Isolated From Cobia Fish (*Rachycentron canadum*) and Their Antagonistic Effects on the Growth of Pathogenic *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Streptococcus iniae*, and *Streptococcus agalactiae*. Frontiers in Marine Science, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.672213>
3. AOAC. (2003). Official Methods of Analysis (17th ed.). AOAC International.
4. Awad, E., & Awaad, A. (2017). Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. Fish & Shellfish Immunology, 67, 40–54. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.05.034>
5. Balami, S. (2021). Recirculation aquaculture systems: components, advantages, and drawbacks. Tropical Agroecosystems, 2(2), 104–109. <https://doi.org/10.26480/taec.02.2021.104.109>
6. Biesalski, H.-K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., Walter, P., & Weber, P. (2009). Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. Nutrition, 25(11–12), 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
7. Biller-Takahashi, J. D., & Urbinati, E. C. (2014). Fish Immunology. The modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian studies. Anais Da Academia Brasileira de Ciências, 86(3), 1484–1506. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201420130159>
8. Caruso, D., Lusiastuti, A. M., Taukhid, Slembrouck, J., Komarudin, O., & Legendre, M. (2013). Traditional pharmacopeia in small scale freshwater fish farms in West Java, Indonesia: An ethnoveterinary approach. Aquaculture, 416–417, 334–345. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.048>
9. Catap, E. S., Jimenez, M. R. R., & Tumbali, M. P. B. (2015). Immunostimulatory and anti-oxidative properties of corn silk from *Zea mays* L. in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. International Journal of Fisheries and Aquaculture, 7(3), 30–36. <https://doi.org/10.5897/IJFA14.0449>
10. Cazarin, C. B. B., Bicas, J. L., Pastore, G. M., & Marostica Junior, M. R. (2022). Introduction. In Bioactive Food Components Activity in Mechanistic Approach (pp. 1–3). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823569-0.00004-7>
11. Chakraborty, S. B., & Hancz, C. (2011). Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. Reviews in Aquaculture, 3(3), 103–119. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2011.01048.x>

12. Cristea, V., Ceapa, C., & Grecu, I. (2002). Ingineria sistemelor recirculante din acvacultură. Editura Didactica si Pedagogica R.A.
13. Cristea, V., Sfetcu, L., Grecu, I., Mihalache, A., & Vasilean, I. (2005). Rearing of different fish species in an experimental recirculating systems. Buletin USAMV Cluj Napoca, 62.
14. Defoirdt, T., Sorgeloos, P., & Bossier, P. (2011). Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. Current Opinion in Microbiology, 14(3), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.03.004>
15. FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
16. Hrubec, T. C., & Smith, S. A. (1998). Hematology of fish. In B. F. Feldman, J. G. Zinkl, & N. C. Jain (Eds.), Schalm's Veterinary Hematology (5th ed., pp. 1120–1125). W.W. Lippincott.
17. Hunter, D., & Bomford, R. R. (1968). Hutchison's Clinical Methods (14th ed.). Bailliere Tindall and Cassell Place Published: London.
18. Kari, Z. A., Wee, W., Hamid, N. K. A., Mat, K., Rusli, N. D., Khalid, H. N. M., Sukri, S. A. M., Harun, H. C., Dawood, M. A. O., Hakim, A. H., Khoo, M. I., Abd El-Razek, I. M., Goh, K. W., & Wei, L. S. (2022). Recent Advances of Phytobiotic Utilization in Carp Farming: A Review. Aquaculture Nutrition, 2022(1), 1–10. <https://doi.org/10.1155/2022/7626675>
19. Kondi, V. (1981). Laboratorul clinic – Hematologie. Editura Medicală București, ISBN: 9733900249.
20. Kumar, S., Krishna Chaitanya, R., & Preedy, V. R. (2018). Assessment of Antioxidant Potential of Dietary Components. In HIV/AIDS (pp. 239–253). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809853-0.00020-1>
21. Liu, R. H. (2013). Dietary Bioactive Compounds and Their Health Implications. Journal of Food Science, 78(s1), A18–A25. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12101>
22. Malini, D. M., Madihah, Apriliandri, A. F., & Arista, S. (2018). Increased Blood Glucose Level on Pelagic Fish as Response to Environmental Disturbances at East Coast Pangandaran, West Java. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 166, 012011. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/166/1/012011>
23. Mansour, A. T., Mahboub, H. H., Elshopakey, G. E., Aziz, E. K., Alhajji, A. H. M., Rayan, G., Ghazzawy, H. S., & El-Houseiny, W. (2022). Physiological Performance, Antioxidant and Immune Status, Columnaris Resistance, and Growth of Nile Tilapia That Received *Alchemilla vulgaris*-Supplemented Diets. Antioxidants, 11(8), 14944. <https://doi.org/10.3390/antiox11081494>
24. Ministerul Mediului și Gospodăririi Apelor. (2006). Ordin nr. 161 din 16 februarie 2006 pentru aprobarea Normativului privind clasificarea calității apelor de suprafață în vederea stabilirii stării ecologice a corpurilor de apă. <https://legislatie.just.ro/Public/DetaliiDocumentAfis/72574>
25. Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Hatakeyama, M., Sasaki, Y., Koide, N., Tada, S., & Ueda, H. (2018). Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on prevention of the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae* in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*. Journal of Fish Biology, 93(3), 528–539. <https://doi.org/10.1111/jfb.13681>
26. Mocanu (Crețu), M. (2013). Cercetări privind elaborarea modelului creșterii păstrăvului curcubeu (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) într-un sistem recirculant de acvacultură industrială. Universitatea „Dunărea de Jos”

27. Moriarty, D. J. W. (1998). Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164(1–4), 351–358. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00199-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00199-9)
28. Nayak, S. K. (2010). Probiotics and immunity: A fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(1), 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.02.017>
29. Ognean, L., & Cernea, C. (2006). Aplicații practice de Fiziologie Medicală – Veterinară. Ed. AcademicPres, Cluj-Napoca.
30. Patriche, N., Popa, P., Mocanu, R., & Sârbu, C. (2001). Calitatea mediului acvatic – Metode de control și interpretare. Editura Ceres.
31. Pattillo, A. (2014). Water Quality Management for Recirculating Aquaculture. <https://www.researchgate.net/publication/296694288>
32. Pickering, A. D. (1993). Growth and stress in fish production. In G.A.E. Gall; H. Chen (Ed.), *Genetics in Aquaculture* (pp. 51–63). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-81527-9.50010-5>
33. Ranjan, R., Sampath, K., Raju, S. N., Bathina, C., & Avadhanula, R. K. (2022). Recirculating Aquaculture System engineering: Design, components and construction. In *Training Manual on nursery rearing of Indian pompano in Recirculating Aquaculture System*, CMFRI Training Manual Series, (Vol. 28, pp. 19–36). ICAR-CMFRI.
34. Rashidian, G., Boldaji, J. T., Rainis, S., Prokić, M. D., & Faggio, C. (2021). Oregano (*Origanum vulgare*) Extract Enhances Zebrafish (*Danio rerio*) Growth Performance, Serum and Mucus Innate Immune Responses and Resistance against *Aeromonas hydrophila* Challenge. *Animals*, 11(2), 299. <https://doi.org/10.3390/ani11020299>
35. Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sarter, S., Sasal, P., & Caruso, D. (2021). Moving towards more sustainable aquaculture practices: a meta-analysis on the potential of plant-enriched diets to improve fish growth, immunity and disease resistance. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 537–555. <https://doi.org/10.1111/raq.12485>
36. Sahu, B., Priyadarshini, S., & Mohanta, K. N. (2017). Biosecurity Measures in Aquaculture. *Fishing Chimes*, 37(2). <https://www.researchgate.net/publication/345759869>
37. Savin, V., Cristea, V., Mocanu, E., Dima, F., Popa, M. D., & Patriche, N. (2022). Efficiency of probiotics in carp (*Cyprinus carpio*) growth in the aquaculture recirculating system. *Animal & Food Sciences Journal*, 77(1), 269–273. https://www.uaiasi.ro/firaa/Pdf/Pdf_Vol_77/V_Savin-2.pdf
38. Savin, V., Dima, F. M., Tenciu, M., Patriche, N., Popa, M. D., & Cristea, V. (2023). Evaluation of the haematological profile and biochemical indices in the blood of common carp (*Cyprinus carpio*), as response to supplementing their diet with phytogetic compounds, 66(1), 631–636. https://animalsciencejournal.usamv.ro/pdf/2023/issue_1/Art82.pdf
39. Savin, V., Mocanu, E., Dima, F., Patriche, N., Popa, M. D., & Cristea, V. (2022). Influence of Phytogetic Additives on Growth Parameters and Meat Biochemistry in *Cyprinus carpio*. *Scientific papers animal science and biotechnologies*, 55(2), 91–96. https://spasb.ro/index.php/public_html/article/view/66
40. Savin, V., Tenciu, M., Dima, F. M., Patriche, N., Lacatus, M. F., Coman, E. I., & Cristea, V. (2024). Influence of probiotic diets on the growth and well-being of *Acipenser baerii* species in a recirculating aquaculture system. *Scientific Papers. Series D. Animal*

- Science, 67(2), 631–637.
https://animalsciencejournal.usamv.ro/pdf/2024/issue_2/Art79.pdf
41. Schrader, K. K., Hamann, M. T., McChesney, J. D., Rodenburg, D. L., & Ibrahim, M. A. (2015). Antibacterial activities of metabolites from *Platanus occidentalis* (American sycamore) against fish pathogenic bacteria. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 6(10). <https://doi.org/https://doi.org/10.4172/2155-9546>
 42. Senok, A. C., Ismaeel, A. Y., & Botta, G. A. (2005). Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(12), 958–966. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01228.x>
 43. Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. El, Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., ... Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
 44. Summerfelt, R. C., & Penne, C. R. (2005). Solids removal in a recirculating aquaculture system where the majority of flow bypasses the microscreen filter. *Aquacultural Engineering*, 33(3), 214–224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.02.003>
 45. Taştan, Y., & Salem, M. O. A. (2021). Use of Phytochemicals as Feed Supplements in Aquaculture: A Review on Their Effects on Growth, Immune Response, and Antioxidant Status of Finfish. *Journal of Agricultural Production*, 2(1), 32–43. <https://doi.org/10.29329/agripro.2021.344.5>
 46. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Dawood, M. A. O., Chitmanat, C., & Tayyatham, K. (2017). Effects of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and *Lactobacillus plantarum* on mucosal, serum immunology and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 70, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.09.002>
 47. Wu, Z.-F., Zhu, B., Wang, Y., Lu, C., & Wang, G.-X. (2011). In vivo evaluation of anthelmintic potential of medicinal plant extracts against *Dactylogyrus intermedius* (Monogenea) in goldfish (*Carassius auratus*). *Parasitology Research*, 108(6), 1557–1563. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2211-5>