

ZOOTEHNIE ȘI BIOTEHNOLOGII

CZU 579.695+579.64:631.46

TEHNOLOGIA DE OBTINERE A NOULUI BIOPREPARAT „BIOEX-ZN” DIN DROJDII ȘI EFECTELE UTILIZĂRII PENTRU DEZVOLTAREA ICRELOR ȘI LARVELOR DE PEȘTE

M. USATÎI¹, AGAFIA USATÎI², ELENA CHIRIȚA²,
O. CREPIS¹, ELENA MOLODOI², TAISIA MOLDOVEANU²

¹Institutul de Zoologie al A.Ș.M.,

²Institutul de Microbiologie al A.Ș.M.

Abstract. It is proposed the technology of obtaining „Bioex - Zn” biopreparation from dregs in order to stimulate spawn and fish’s grubs viability. There are described the results of the microbial biopreparation against the viability of the spawn and fish embryo and against the height of each fish’s grubs.

Key words: Ascorbic acid, Amino-acids, Dregs, Licopine, Lipids.

INTRODUCERE

În aquacultură drojdiile își găsesc o aplicare tot mai mare în calitate de sursă alimentară sau supliment nutritiv. S-a demonstrat, că unele drojdii posedă în componența lor variați compuși, rar întâlniți în alte surse alimentare de natură vegetală. A fost dovedit că insuficiența β -carotenului, licopinei, altor carotenoide (pigmenți sintetizați în cantități relativ sporite de către drojdii) în hrana unor animale acvatice, în deosebi la creșterea lor în condiții artificiale, duce la pierderi economice destul de esențiale.

În Republica Moldova se simte necesitatea acută de biopreparate pentru revigorarea sectorului zootehnic și piscicol. Introducerea biopreparatelor microbiene în regimul alimentar poate contribui la rezolvarea unor probleme ce țin de sporirea producției de carne, pește și produselor din acestea, eficacitatea lor fiind deja confirmată în diferite țări (C. Misăilă et al., 1990; O. Carnevali et al., 1998).

Este cunoscut procedeul de sporire a vitalității peștilor atât la etapele timpurii de dezvoltare, cât și la etapele mai târzii, prin utilizarea produsului „BIOEX”, obținut din vrejuri de tomate, castraveți și alte reziduuri vegetale (E. Яковенко, 1988). Se propune și procedeul de sporire a vitalității icrelor, ce include prelucrarea icrelor cu un amestec apos de microelemente: cupru, zinc și mangan în doze de 50..75 mkg/l (E. Zubcov et al., 1998).

Metodele expuse nu întotdeauna permit obținerea unui procent suficient de înalt de sporire a vitalității larvelor și puietului de pește.

Scopul cercetărilor constă în elaborarea tehnologiei de obținere a biopreparatului „Bioex-Zn” din drojdiile pigmentate pentru stimularea vitalității icrelor și larvelor de pește.

MATERIAL ȘI METODĂ

Obiect al cercetărilor a servit tulpina de drojdii pigmentate *Rhodotorula gracilis*- CNMN-Y-03, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene și în colecția laboratorului Producși microbieni al Institutului de Microbiologie al A.Ș.M.

Cultivarea drojdiei s-a efectuat pe mediul cultural MZ-30 (E. Chirița, 2005).

Proprietățile biochimice de bază ale preparatului „Bioex-Zn”, au fost stabilite utilizând metodele: determinarea componenței aminoacizilor cu utilizarea analizatorului AAA-339 „Microtehnica” (Cehia), (Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков, 1974); determinarea componenței lipidelor (M. Kates, 1986).

Efectele acțiunii biopreparatului microbial s-au apreciat prin determinarea procentului de icre viabile și embrionilor eclozați conform metodelor generale și speciale descrise (I. Pojoga, R. Negriu, 1988).

Prelucrarea statistică a datelor experimentale s-a efectuat conform recomandărilor din biometrie (Б. Доспехов, 1973).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Dezvoltarea intensivă a biotehnologiei microbiologice creează noi premise pentru utilizarea drojdiilor în scopul soluționării problemelor acute din diferite domenii, inclusiv piscicultură. Sporirea eficacității producerii și utilizării produselor sintezei microbiene este indisolubil legată de perfecționarea tehnologiilor de cultivare a obiectelor microbiologice.

Procesul tehnologic de obținere a preparatului „Bioex-Zn” constă din 3 etape de bază: obținerea inoculatului, procesul fermentării și biosintezei substanțelor biologic active de către drojdia *Rhodotorula gracilis* - CNMN-Y-03, obținerea preparatului (fig. 1).

1. Obținerea inoculatului (materialului semincer). Cultivarea materialului semincer a drojdiei *Rhodotorula gracilis* CNMN-YS-03 se face în tuburi cu malț agarizat și în baloane cu must de malț lichid. În calitate de material pentru însămânțare se utilizează cultura, crescută pe mediu cu must de malț agarizat în tuburi timp de 5 zile. Materialul semincer din tuburi se spală prin adăugarea a 8-10 ml soluție fiziologică și se agită, apoi se transferă în baloane cu mediu nutritiv (must de malț). Drojdiile se cultivă pe agitator cu 180-200 rot/min la o temperatură de 25-27°C, timp de 3 zile. Calitatea materialului semincer se verifică prin microscopie sau pe calea însămânțării în mediu nutritiv. Inoculatul steril poate fi păstrat timp de 10 zile la temperatura de +4..+6°C.

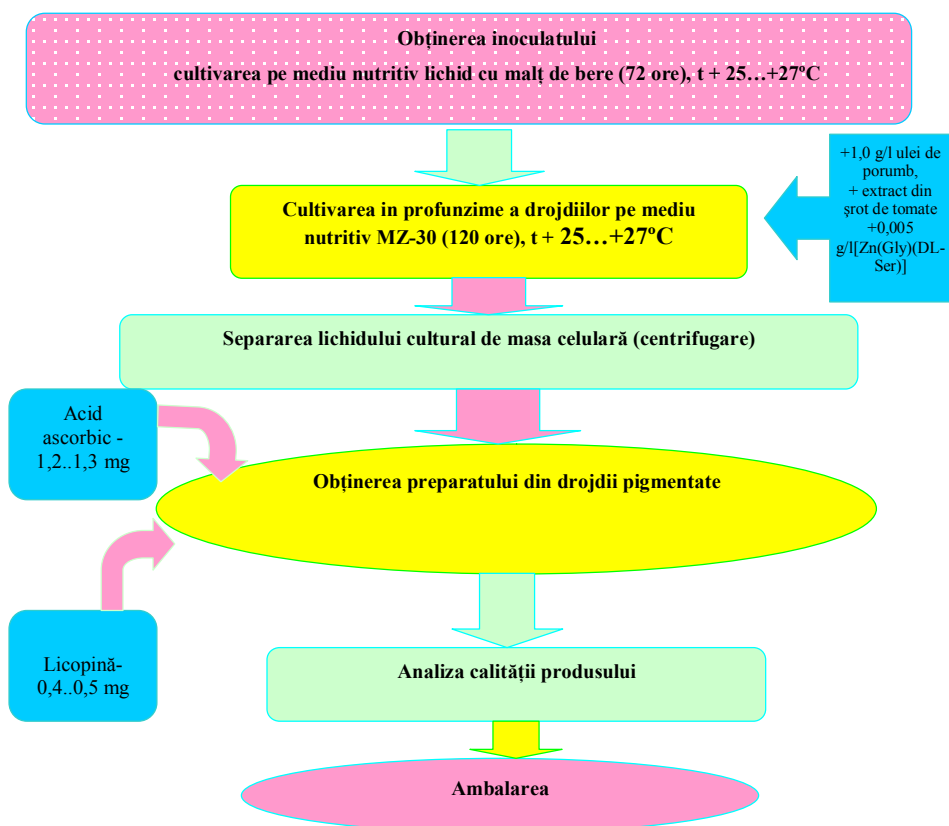


Fig. 1. Schema obținerii biopreparatului „Bioex-Zn” din drojzii pigmentate pentru stimularea vitalității icrelor și larvelor de pește

2. Procesul fermentării și biosintezei substanțelor biologic active. Procedul constă din câteva etape: prepararea mediului nutritiv steril; însămânțarea culturii *Rhodotorula gracilis* CNMN-YS-03 în mediu nutritiv; fermentarea.

În condiții de laborator fermentarea se petrece în baloane de 1 litru, sterilizate în prealabil. Pentru cultivarea drojdiei *Rhodotorula gracilis* CNMN-YS-03 se prepară mediul nutritiv MZ-30. În mediul dat se transferă materialul semincer în cantitate de 5% din volumul mediului pentru fermentare. Baloanele cu mediu însămânțat se instalează la agitator (180-200 rot/min) și se cultivă la temperatura de +25...+27°C, timp de 5 zile, iluminare 12 – 15 mii erg/cm².

3. Elaborarea și caracteristica preparatului „Bioex-Zn”. Constă din următoarele etape:

separarea lichidului cultural de masa celulară prin centrifugare, timp de 20 minute, la 3000 rot/min; analiza compoziției biochimice a lichidului cultural (se determină conținutul în aminoacizi, lipide, vitamine și alte principii bioactive); pregătirea și caracteristica preparatului.

Caracteristica biopreparatului „Bioex-Zn”

Preparatul conține lichidul cultural al drojdiilor din genul *Rhodotorula* cu compoziția, mg/ la 100 ml: 160-180 aminoacizi, inclusiv imunoactivi – 70-78 % (acid asparagic, acid glutamic, glicină, alanină, valină, cisteină, triptofan) (tab.1) și aminoacizi esențiali – 67-71%; lipide-80-90 mg% , la care se adaugă substanțe cu caracter antioxidant - lycopină – 0,4-0,5 mg% și acid ascorbic – 1,2-1,3 mg%.

Preparatul este lichid, de culoare gălbuie. Este ambalat în fiole de 50 sau 100 ml, se sterilizează la vapori fluctuanți timp de 3 zile la 3/4 atmosfere 20 minute. Biopreparatul se păstrează la o temperatură de +4..+10°C, în decurs de 6 luni.

Tabelul 1

Conținutul aminoacizilor imunoactivi în biopreparatul „Bioex-Zn”

Nr. d/o	Aminoacizi imunoactivi	% din sumă
1	Acid glutamic	37,96
2	Acid asparagic	7,38
3	Alanină	4,33
4	Cisteină	7,40
5	Glicină	7,51
6	Serină	4,42
7	Treonină	3,89
8	Triptofan	2,41
9	Valină	2,38

Eficacitatea biopreparatului a fost studiată în condiții experimentale. Icrele fecundate de pește au fost tratate timp de 50...60 min cu soluție deglutinantă, în care s-a introdus preparatul în doză de 0,1; 1,0; 5,0 și 10,0 ml la 1 l soluție deglutinantă. Apoi icrele au fost supuse incubăției conform tehnologiei tradiționale. Odată cu trecerea larvelor de pește la alimentarea exogenă, preparatul din drojdie s-a adăugat în hrană în doză de 1,0; 10,0; 50,0 și 100,0 ml la 1 kg hrană. Hrana suplimentată cu preparat s-a administrat larvelor de pește timp de 16...20 zile. În calitate de martor a servit varianta, în care tratarea icrelor fecundate s-a efectuat cu soluție apoasă de microelemente cupru, zinc, mangan în doză de 50...75 μg/l soluție deglutinantă (martor I) și soluție deglutinantă fără includerea acestora sau a biopreparatului „Bioex-Zn” (martor II).

Rezultatele au arătat, că utilizarea biopreparatului din drojdie contribuie la sporirea procentului de icre fecundate viabile de la 21,2 la 29,2% în raport cu martorul II (tab. 2). Utilizarea biopreparatului „Bioex-Zn” a accelerat substanțial dezvoltarea embrională. Embrionii din variantele experimentale au eclozat din icre cu 8-12 ore mai înainte față de martor. Aplicarea biopreparatului a contribuit la vitalitatea embrionilor la toate etapele de dezvoltare, iar numărul total de embrioni eclozați au fost cu 22...38,6 % mai mare față de martorul I și cu 13,7...60,7 % față de martorul II (tab. 2).

Tabelul 2

Efectele biopreparatului „Bioex-Zn” asupra dezvoltării icrelor de crap

Varianta	Doza utilizată, ml/l soluție deglutinantă	Icre fecundate			Embrioni eclozați		
		Icre viabile, % de la numărul inițial $X_1 \pm X_2$	% la Martor I	% la Martor II	Embrioni eclozați, % de la numărul inițial $X_1 \pm X_2$	% la Martor I	% la Martor II
I	0,1	74,67±0,88	90,7	98,7	32,00±1,16	88,1	102,2
II	1,0	91,33±0,88	110,9	120,8	35,67±1,20	98,0	113,7
III	5,0	93,00±0,58	113,0	123,0	44,33±1,45	122,0	141,5
IY	10,0	97,33±0,88	118,2	128,7	50,33±0,88	138,6	160,7
Martor I	-	82,33±1,45	100,0	108,8	36,67±1,20	100,0	115,9
Martor II	-	75,67±0,33	91,4	100,0	31,33±0,88	86,2	100,0

Includerea biopreparatului „Bioex-Zn” în furajul larvelor de pește contribuie și la majorarea numărului de larve (de 1,5...1,6 ori), precum și la sporirea greutateii medii a larvelor de pești cu 51,3...63,3% față de martorul II (tab. 3).

Tabelul 3

*Efectele biopreparatului „Bioex-Zn” asupra dezvoltării larvelor de crap
(la 16 zile după eclozare)*

Varianta	Doza utilizată, ml/1kg hrană	Larve viabile			Greutatea medie a larvei, mg		
		Numărul de larve, % de la numărul inițial $X_1 \pm X_2$	% la Martor I	% la Martor II	Greutatea medie, mg $X_1 \pm X_2$	% la Martor I	% la Martor II
I	1,0	52,33±0,88	98,6	106,0	30,66±1,20	93,8	100,0
II	10,0	76,00±0,58	143,3	154,1	46,33±0,33	142,0	151,3
III	50,0	80,33±0,88	151,5	162,8	50,00±1,16	153,3	163,3
IV	100,0	78,67±0,67	148,3	159,4	48,33±0,33	148,1	157,8
Martor I	-	53,00±0,58	100,0	107,5	32,67±0,67	100,0	106,5
Martor II	-	49,33±0,33	93,0	100,0	30,67±0,67	93,8	100,0

Rezultatele experimentale permit de a propune următorii parametrii optimali de utilizare a biopreparatului microbial „Bioex-Zn” pentru dezvoltarea icrelor și larvelor:

a) Pentru dezvoltarea icrelor – începutul tratării cu biopreparat de efectuat în procesul de fecundare a icrelor; durata tratării icrelor – 50-60 minute; concentrațiile optime de utilizare a preparatului – 5-10 ml/l soluție deglutinantă;

b) Pentru utilizarea biopreparatului în hrana larvelor de pește - începutul alimentării la etapa I de dezvoltare a larvelor; durata utilizării preparatului – primele 16 zile de dezvoltare; dozele optime de utilizare a preparatului – 10...50 ml la 1 kg furaj.

Astfel, biopreparatul respectiv poate fi considerat de perspectivă pentru utilizare în piscicultură.

CONCLUZII

1. Tehnologia elaborată permite obținerea din exometaboliții drojdiei *Rhodotorula gracilis* CNMN-Y-03 a biopreparatului „Bioex-Zn” cu conținut înalt de principii bioactive cu caracter imunoactiv și antioxidant - aminoacizi imunoactivi 70-78 % din totalul aminoacizilor, lipide - 80-90 mg%, licopină – 0,4-0,5 mg%, acid ascorbic – 1,2-1,3 mg%.

2. Biopreparatul „Bioex-Zn” se propune ca biostimulent al vitalității icrelor și larvelor de pește. Tratarea icrelor de ciprinide cu biopreparatul „Bioex-Zn” contribuie la sporirea numărului de icre fecundate de 1,2 ori, a embrionilor eclozați de 1,5...1,6 ori, a larvelor de 1,5...1,6 ori și greutateii individuale a acestora, ceea ce permite de a obține o producție suplimentară de larve la cantitățile inițiale propuse pentru creștere.

BIBLIOGRAFIE

1. Carnevali, Oliana, Mosconi, Gilberto, Centoze, Fabrizia et al. Influence of dietary lipid composition on yolk protein components in sea bass. *Dicentrarchus labrax*.// Sci. mar. 1998. 62, №4. p. 311-318.
2. Chirița, Elena. Sinteza orientată a carotenoidelor de către drojzii și perspectiva utilizării lor. Autoref. al tezei de doctor în biol. Chișinău, 2005, 22 p.
3. Kates, M. Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids. Amsterdam, New York; Oxford: Elsevier, 1986.
4. Misăilă, C., Elena, Rada Misăilă. Implicații ale hrănirii artificiale asupra creșterii păstrăvului în viviere // Piscicultura Moldovei, Iași, 1990, v.1, p.191-200.
5. Pojoga, I., Negriu, R. Piscicultura practică // Editura Cereș, București, 1988, 212 p.
6. Zubcov, E., Toderaș, I., Zubcov N. et al. Procedeu de sporire a rezistenței biologice a peștilor la etapele timpurii de dezvoltare. Brevet de invenție MD 1116, 16.10.1998.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1973, 336с.
8. Новые методы анализа аминокислот, пептитов и белков./Пер. с англ. Овчиникова Ю.А./, 1974, 103с.
9. Яковенко Е.Я. Способ стимуляции развития рыб. Авт. Св. № 1551308., СССР, 1988.

Data prezentării articolului - 24.03.2006