

II 39. 882

UNIVERSITATEA "DUNĂREA DE JOS"
GALAȚI
FACULTATEA DE ȘTIINȚA ȘI INGINERIA
ALIMENTELOR

TEZA DE DOCTORAT

REZUMAT

*Sistem de creștere intensivă a nisetrului
(Acipenser guldenstaedti)*

266739

CONDUCATOR ȘTIINȚIFIC
PROF.DR.ING. VICTOR CRISTEA



DOCTORAND
MARILENA MAEREANU

GALAȚI, 2011

MULȚUMIRI

Finalizarea prezentei lucrări îmi oferă prilejul de a adresa cele mai sincere mulțumiri persoanelor care m-au sprijinit în realizarea ei și care au contribuit la îmbunătățirea nivelului meu de cunoaștere.

Cu deosebită considerație și multă recunoștință aduc mulțumirile mele cele mai sincere conducătorului științific, Domnului Prorector, Profesor Doctor Inginer Victor Cristea, pentru bunăvoința Domniei sale de a prelua conducerea științifică, pentru abnegația cu care s-a aplecat asupra îndrumării mele, pentru încrederea pe care mi-a acordat-o în demersul de a iniția, dezvolta și finaliza cercetările asociate prezentei lucrări.

Mulțumesc comisiei, Domnului Decan al Facultății de Știință și Ingineria Alimentelor, Profesor Doctor Inginer Petru Alexe, președintele comisiei, Domnului Rector, Profesor Doctor Inginer Ștefan Diaconescu și Doamnei Doctor Inginer Mioara Costache, pentru acceptul Domniilor lor de a fi referenți.

Mulțumesc tuturor cadrelor didactice de la Catedra de Acvacultură, Știința Mediului și Cadastru pentru suportul moral și susținerea ce mi-au acordat-o pe toată perioada realizării cercetărilor și elaborării prezentei teze.

Deosebite mulțumiri îi adresez stimatului Domn Profesor Doctor Inginer Nicolae Dobrovici Bacalbașa pentru aprecierile referitoare la rezultatele mele profesionale în domeniul sturioniculturii și îndemnului Domniei sale de a – mi continua

pregătirea științifică și profesională în acest domeniu.

Mulțumiri speciale îi adresez Doamnei ș.I. Doctor Inginer Dediu Lorena, care mi-a oferit un real sprijin pe tot parcursul realizării cercetărilor și al elaborării prezentei teze de doctorat.

Cu aleasa considerație mulțumesc tuturor colaboratorilor împreună cu care am întreprins cercetări inovative în domeniul sturioniculturii în Stația de Reproducere a Sturionilor de la Isaccea și în Ferma Horia, Domnului Doctor Suciu Radu și Colectivului de la Institutul Național de Cercetare și Dezvoltare Delta Dunării Tulcea.

Datorez mulțumirile mele colectivului Institutului de Pescuit și Acvacultură, în mod deosebit Domnului Profesor Doctor Inginer Neculai Patriche pentru sprijinul profesional acordat pe parcursul pregătirii mele.

Adresez mulțumirile și recunoștința față de Domnul Profesor Hans Bearcler de la Institutul de Cercetări Sturionice Wöllershof Germania, care mi-a călăuzit primii pași în această captivantă activitate, împartășindu-mi din experiența acumulată de Domnia sa în cei peste treizeci de ani de activitate .

Nu în ultimul rând, aș dori să mulțumesc familiei mele în special soțului meu, pentru susținerea acordată.

CUPRINS

I STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII PRIVIND BIOLOGIA, REPRODUCEREA ȘI CREȘTEREA LA SPECIA ACIPENSER GULDENSTAEDTI.....	9
1.1.Ecobiologia speciei <i>Acipenser guldenstaedti</i>	9
1.1.1.Sistematica și repartiția geografică.....	10
1.1.2.Caracterizarea morfologică și morfometrică a speciei.....	10
1.1.3.Caracterizarea genetică a speciilor de sturioni din Dunăre.....	11
1.2. Bazele biologice ale reproducerii nisetului	19
1.2.1.Gametogeneza.....	20
1.2.2. Aspecte privind dimorfismul sexual și determinarea gradului de maturare la sturioni.....	24
1.2.3 Influența factorilor mediali asupra reproducerii sturionilor	28
1.3 Stadiul actual al cunoașterii privind tehnologiile de reproducere și dezvoltare larvară la nisetru.....	29
1.3.1.Considerații generale privind tehnologia reproducerii artificiale la nisetru	29
1.3.2. Considerații generale privind dezvoltarea embrionară și larvară la nisetru	38
1.3.3.Considerații generale privind calitatea mediului acvatic.....	45
1.3.4.Considerații generale privind managementul hrănirii în perioada larvară	53
1.4. Stadiul cunoașterii utilizării ecografiei pentru determinarea sexului la sturioni	61
1.4.1. Considerații generale privind utilizarea ecografiei pentru determinarea sexului la sturioni	61
1.4.2.Efectele ultrasunetelor	65
II.MATERIALE ȘI METODE DE LUCRU	70
2.1. Sit-ul experimental și baza materială.....	70
2.1.1. Facilități tehnologice și organizarea experimentelor privind reproducerea artificială a nisetului.....	70
2.1.2.Facilități tehnologice și organizarea experimentului privind dezvoltarea laevară la nisetru.....	73

2.1.3.Facilități tehnologice și organizarea experimentului privind tehnologia creșterii nisetruului până la talia comercializabilă	74
2.2. Monitorizarea parametrilor de calitate a apei	85
2.3. Indicatori biotehnologici	87
2.4. Prelucrarea statistică a datelor	88
III. EXPERIMENTE PRIVIND REPRODUCEREA ARTIFICIALĂ , ALEVINAJUL ȘI CREȘTEREA INTENSIVĂ A NISETRULUI.....	89
3.1.Rezultate și discuții privind reproducerea artificială la nisetru	89
3.2. Rezultate și discuții privind crioconservarea spermei la sturioni în stația de reproducere Isaccea.....	95
3.3. Rezultate și discuții privind alevinajul la nisetru.....	107
3.3.1.Experimentări privind influența regimului de hrană și dezvoltării larvelor și alevinilor de nisetru.....	110
3.3.2. Experimentări privind dezvoltarea unui program nutrițional adecvat creșterii și dezvoltării larvelor și alevinilor de nisetru	118
3.3.3.Concluzii.....	124
3.4.Rezultate și discuții privind tehnologia dezvoltării și creșterii intensive a nisetruului.	126
3.5.Rezultate și discuții privind elaborarea modelului de creștere la nisetru	134
3.5.1. Elaborarea modelului de creștere la nisetru în perioada de alevinaj.....	134
3.5.2.Elaborarea modelului de creștere la nisetru de la stadiul de puiet până la talia comercializabilă	137
IV. CERCETARI PRIVIND EFECTUAREA SEXAJULUI TIMPURIU ȘI EVALUAREA GRADULUI DE maturare A GONADELOR LA NISETRULUI.....	139
V. CONTRIBUȚII PERSONALE.....	148
BIBLIOGRAFIE.....	151
ANEXA . LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE PRIVIND VALORIFICAREA REZULTATELOR CERCETĂRII.....	165

INTRODUCERE

Menținerea integrității efectivelor de sturioni sălbatici din Dunăre reprezintă, la ora actuală, un obiectiv de interes public major iar politica dusă pentru protecția lor a condus până la instituirea unor măsuri speciale de interdicere temporară a pescuitului în scop comercial și de dezvoltare a sistemului de acvacultură a sturionilor din România ca măsură alternativă pentru reducerea presiunii prin suprapescuit și pentru continuarea programelor de populare a Dunării cu puieți de sturioni.

Elementul cheie pentru supraviețuirea acestor populații de sturioni îl reprezintă asigurarea unor condiții optime desfășurării procesului de reproducere atât în mediul natural cât și în cel oferit de acvacultură unde, conform legislației, este obligatorie menținerea reproducătorilor în stare vie.

Exista încă multe necunoscute legate de sturioni și modul de viață al acestora, necunoscute care sunt totodată importante provocări pentru mediul științific ce explorează acest domeniu:

- ✓ migrația și comportamentul în perioada depunerii icrelor la speciile de sturioni din Dunăre;
- ✓ localizarea în Dunărea inferioară a habitatelor specifice pentru depunerea icrelor și iernare ale speciilor de sturioni din Marea Neagră;
- ✓ comportamentul în primele etape de viață ale speciilor de sturioni din Dunăre;
- ✓ deplasarea în aval a puilor de sturioni din Marea Neagră (incluzând comportamentul de cohortă);
- ✓ distribuția anuală a populațiilor de sturioni din Marea Neagră;
- ✓ comportamentul speciilor de sturioni diadromi după trecerea lor în lacul de baraj de la Porțile de Fier I și / sau II;

Cercetările cu privire la aceste aspecte sunt greu de realizat datorită gradului mic de transparentă a apei de Dunăre dar și datorită costurilor și perioadelor foarte mari de timp necesare obținerii unor rezultate concrete.

În ultimii ani s-au făcut câțiva pași în acest sens și mă refer aici la marcarea cu microcipuri satelitare a câtorva exemplare de sturioni de Dunăre, experiment ce a generat obținerea primelor informații privind traseele de migrație a sturionilor după participarea lor la reproducere, în Dunăre.

"Proiectul Best Combat, este implementat cu sprijinul unui grant din Norvegia, oferit prin intermediul Programului de Cooperare Norwegian pentru Creștere Economică și Dezvoltare Durabilă în România, cu sprijinul Ministerul Mediului și Pădurilor din România. Proiectul este coordonat de Institutul Delta Dunării (DDNI), partenerii de proiect incluzând: Institutul Norvegian pentru Cercetarea Calității Apei (NIVÅ), Universitatea Norvegiană de Științe Tehnologie (NTNU) și Kaviar House, o companie românească de creștere a sturionilor."Cipurile pentru localizarea prin satelit înregistrează mișcările sturionului, până acum necunoscute și ajută biologia de la Best Combat să stabilească „Itinerariul” său, de la depunerea icrelor în Dunăre până la întoarcerea în Marea Neagră pentru a se hrăni . Prin înregistrările trimise prin intermediul satelitului, se poate calcula traseul și adâncimea la care se deplasează peștele. ”

De asemenea, au fost demarate programe de populare în scopul refacerii stocurilor speciilor periclitate de sturioni de Dunăre. Aceste populări au fost realizate în baza unor studii de oportunitate și monitorizate pe linii genetice prin aplicarea unor mărci tip CWT (Coded Wire Tag) la puietul de sturioni înaintea eliberării acestuia în mediul natural.

În cadrul Programelor de populare este obligatoriu ca la capturarea reproducătorilor de sturioni să se facă marcarea acestora cu cipuri de tip PIT (Passive Integrated Transponder). Importanță acestei mărcări este semnificativă în sensul că, prin capturarea acestor exemplare la întoarcerea în Dunăre pentru următoarea reproducere, acestea pot fi identificate în baza mărcii purtate, element ce poate ajuta la stabilirea ciclului de formare și maturare a gonadelor.

Cercetările în domeniul acvaculturii sturionilor reprezintă premiza dezvoltării cunoașterii unor aspecte ecobiologice și tehnologice, care vor contribui la o mai bună înțelegere a complicatului și îndelungatului proces de evoluție a acestor specii de pești migratori atât de valoroși din punct de vedere științific dar și economic.

“A putea aduce elemente noi actualelor cunoștințe legate de evoluția, biologia, comportamentul și menținerea integrității și diversității genetice a speciilor de sturioni de Dunăre, reprezintă o mare onoare și totodată o mare provocare.”

Marilena Maereanu

ACTIVITATE EXPERIMENTALĂ



Acipenser guldenstaedti Brandt, 1833

MATERIALE SI METODE DE LUCRU

2.1. Sit-ul experimental și baza materială

2.1.1. Facilități tehnologice și organizarea experimentelor privind reproducerea artificială a nisetrelui

Experimentele de reproducere artificială la specia *Acipenser guldenstaedti* au fost realizate în exclusivitate în cadrul stației sturionicele Isaccea.

Stației sturionicolă Isaccea, situată în județul Tulcea (Fig. 12), a fost concepută ca un modul amplasat într-un transcontainer, astfel ca ea să poată fi amplasată în cel mai potrivit loc în vederea realizării reproducerii artificiale la sturionii de Dunăre. Inițial (anul 2002), stația a funcționat în comună Grindu (Mm 74,5) județul Tulcea. Datorită faptului că locația amintită nu îndeplinea toate cerințele pentru realizarea obiectului propus, în primăvara anului 2003, stația modulară a fost transferată în localitatea Isaccea, pe malul românesc al Dunării, foarte aproape de zona de capturare a sturionilor (Mm 53). La Isaccea, modulul inițial a fost înglobat într-o clădire concepută ca o stație modernă de reproducere, alevinaj și creștere a sturionilor, inspirată după modelul stației de la Wöllershof, Bavaria Superioară, Germania.



Figura 13. Stația de reproducere Isaccea

Principalele facilități tehnologice necesare realizării experimentului privind reproducerea artificială la sturionii și, implicit, la reproducerea speciei *Acipenser guldenstaedti* sunt:

- ◆ Sistemul de instalații pentru alimentarea cu apă.

În cadrul stației sturionicole de la Isaccea, alimentare cu apă se face din baterii de puțuri de mică adâncime și/sau din Dunăre. Alimentarea se face cu ajutorul pompelor industriale care preiau apa din Dunăre sau din foraje, sau combinat Dunăre și foraje, și o conduc, prin intermediul rețelelor de țevi, într-un bazin central cu volumul de 4000 litri, amplasat la 240 cm deasupra solului. Apa, din acest bazin de amestec, unde este puternic aerată, este supusă condiționării în scopul asigurării unor parametri de calitate corespunzători speciei de cultură. Astfel, pretratarea se realizează prin filtrare mecanică și apoi prin tratament microbiologic, la trecerea prin filtre U.V. adaptate debitelor necesare stației la un moment dat. După trecerea prin toate treptele de tratare, apa tehnologică este direcționată și stocată în mai multe bazine de inox cu capacitatea de 100 litri, care sunt amplasate deasupra bateriilor de incubatoare. Apa din aceste bazine alimentează, individual, fiecare incubator. Pentru reglarea debitului, fiecare incubator este dotat cu un robinet. Apa tehnologică reziduală, rezultată după trecerea prin incubatoare, este colectată într-o cuva de inox cu racord la conductă de ape uzate. În momentul eclozării, apa din incubatoare este condusă, prin preaplina incubatorului la care se mufează țevi de PVC, spre brutine. Astfel, evadarea larvelor după eclozare, se face automat fără să mai fie necesară intervenția unui operator. Din brutine, prin preaplina acestora, apa uzată ajunge tot în conducta principală de evacuare.



Foto 23. Filtre mecanice cu cuarț tip "Crystal" cu capacitatea de filtrare de 30 m³/h

◆ *Sistemul de încălzire.*

Stația este dotată cu centrală termică proprie, cu lemne și/sau gaz. De asemenea, pentru menținerea temperaturii apei în ecart optim pentru specia de cultură, s-a utilizat un schimbător de căldură de mare capacitate, prevăzut cu electrovalve și dublu sistem de reglare automată a temperaturii apei.

◆ *Sistemul de alimentare cu energie electrică*

Alimentarea cu energie electrică se face de la rețeaua publică de electricitate; Stația este dotată pentru situațiile de întrerupere accidentală a energiei de la rețeaua publică, cu

generator electric de avarie cu pornire automată, cu capacitate de a susține toți consumatorii de energie electrică din stație.

- ◆ Laborator pentru analiza apei și controlul maturării reproducătorilor;
- ◆ Bazine circulare de parcare a reproducătorilor;
- ◆ Sistem automat de descleiere a icrelor;
- ◆ Baterii de incubatoare Zug-Weiss cu sistem de reglare și control automat a debitului de alimentare prin electrovalve și bazine de nivel constant;
- ◆ Sistem de avertizare și alarmă pentru avarii ale sistemului de alimentare cu apă;
- ◆ Bazine pentru predezvoltarea larvelor;
- ◆ Bazine de alevinaj și creștere a puilor.

Toate incintele de incubare a icrelor de sturioni sunt construite pe principiul asigurării unui curent ascendent de apă ce pune în mișcare, într-un flux continuu, întreaga cantitate de icre. Cele mai uzitate incubatoarele sunt cele de tip Zug-Weiss (Foto 24), în care recipientul este din sticlă, are formă cilindrică în primele 2/3 din înălțimea acestuia și tronconică pe ultima treime. Incubatorul este alimentat pe la partea inferioară, cea tronconică, curentul este central, ușor lateral. La partea superioară este prevăzut cu un manșon ce asigură direcționarea larvelor eclozate într-un jgheab de colectare. Capacitatea acestui tip de incubator este variabilă de la 8 la 20 litri iar cantitatea de icre ce poate fi incubată variază de la 0,3 kg la 0,6 kg.

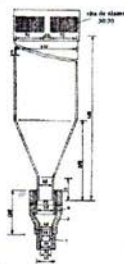


Foto 24. Baterii de incubatoare Zug-Weiss cu sistem de reglare și control automat a debitului de alimentare

2.1.2. Facilități tehnologice și organizarea experimentului privind dezvoltarea larvară la nisetru

Alevinajul este o etapă foarte sensibilă în dezvoltarea sturionilor. După eclozare și utilizarea resurselor viteline, supraviețuirea depinde nu numai de sistemul de creștere și de

gestionarea acestuia ci și de aportul nutritiv adus de alimentația exogenă. Nutriția este cea mai importantă în cadrul acestei etape. Nutriția presupune folosirea unui tip de hrană adecvată prin stabilirea unui procent corect al rației zilnice și ajustarea acestuia în funcție de talia materialului biologic și de condițiile de mediu, precum și un grafic de administrare riguros respectat.

În sprijinul celor afirmate mai sus am realizat un experiment de creștere în stația sturionicolă Isaccea.

Pentru acest experiment a fost utilizat un sistem de predezvoltare care a constat în bazine circulare din fibră de sticlă de culoare verde deschis, volumul de apă fiind de aproximativ 400 litri pentru fiecare unitate în parte – diametru 120 cm și înălțimea bazinului de 40 cm .



Foto 25. Bazine fibră sticlă cu capacitatea de 400 l, amplasate în hala izolată termic,

Alimentarea bazinelor s-a realizat în flux continuu din rezervorul principal al stației care la rândul său este alimentat permanent cu apă din Dunăre. Sistemul de alimentare cu apă utilizat a fost un sistem deschis, cu alimentare și evacuare proprie a fiecărui bazin în parte.

Apa utilizată în unitățile de creștere a larvelor a fost supusă în prealabil filtrării mecanice prin utilizarea unui filtru Crystal de 20 m.c, materialul filtrant fiind reprezentat de particule de siliciu de 1 și 1,5 mm. De asemenea apa tehnologică a fost supusă sterilizării cu ajutorul unui filtru U.V. adaptat debitului utilizat.

Alimentarea bazinelor cu apă se face pe la partea superioară a acestora, de la o distanță de 20 cm peste nivelul bazinului iar evacuarea se face printr-un sifon de fund amplasat în centrul bazinului.

Conducta de alimentare este de un țol în diametru și este prevăzută cu multe orificii mici prin care apa este stropită astfel încât să nu exercite presiune asupra larvelor iar apa să capete un surplus de oxigen în timpul curgerii.

Conducta de evacuare are același diametru și este racordată de la fiecare bazin în parte la evacuarea centrală a stației. Nivelul apei în bazin se realizează cu ajutorul unui sistem de preaplin. Fiecare bazin este dotat cu o sită de protecție așezată peste sifonul de fund care să asigure protecția larvelor și să împiedice evadarea acestora o dată cu evacuarea apei.

Tehnologia de creștere a alevinilor de nisetru în condiții intensive utilizată în cadrul acestui experiment se aplică în mediul dulcicol. A fost asigurată o circulație uniformă a apei, la nivelul fiecărei unități de creștere cu o distribuție cât mai omogenă a oxigenului în masa apei.



Foto 26. Larve de nisetru de 7 zile, Stația sturionicolă Isaccea

2.1.3. Facilitați tehnologice și organizarea experimentului privind tehnologia creșterii nisetrului până la talia comercializabilă.

Creșterea sturionilor se poate realiza prin mai multe tehnologii care variază foarte mult de la extensiv până la intensiv. Sistemele de creștere ale sturionilor sunt: extensiv, semiintensiv, intensiv și superintensiv. De asemenea sturionii pot fi crescuți și în policultură, adică împreună cu alte specii de pești de apă dulce.

În mod obișnuit, nivelul intensității unui sistem de creștere se exprimă prin densitatea la populare sau altfel spus, prin cantitatea de biomasă raportată la unitatea de volum (CRISTEA și colab., 2002).

Ceea ce deosebește un tip de sistem de altul este în primul rând productivitatea, apoi modul în care este amenajată ferma.

Producția anuală în fermele sturionicole, variază între câteva zeci de kilograme la hectar de luciu de apă pe an (sisteme extensive) la peste 100 de kg la metrul cub de apă (sistemele superintensive).

Aceste producții record nu pot fi atinse decât în condițiile folosirii unor furaje performante și prin amenajarea de sisteme de cultură complexe, care exploatează la maxim potențialul biologic al sturionilor.

Un caz particular de sistem de creștere a sturionilor, este cultura în viviere, care deși se practică în volume mari de apă, peștii sunt crescuți în țarcuri mici, densitatea lor fiind apropiată de cea întâlnită în sistemele intensive.

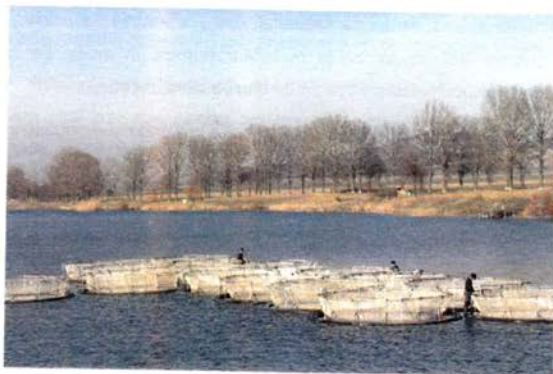


Foto 27. *Cuști flotabile amplasate în lacul de acumulare, Ferma Horia, Kaviar House*

Cuștile flotabile au o structură constructivă determinată de trei elemente:

Sistemul de flotabilitate care este asigurat dintr-o construcție alcătuită din trei sau patru cercuri concentrice, confecționate din țevă de polipropilena flexibilă cu diametru \varnothing 110 până la \varnothing 140 cm.

Pe sistemul de flotare se montează elementele metalice de susținere a plasei – coșului – și elementul trei reprezentat de coșul propriuzis, confecționat din plasă pescărească de preferință fără noduri și care să asigure o adâncime de scufundare de 2 sau 3 metri în funcție de cât permite adâncimea lacului în care sunt amplasate. Ochiurile plasei (coșului) variază în funcție de talia peștilor ce urmează a fi populați în cuștile respective. Cuștile flotabile trebuie să fie bine ancorate și amplasate pe un lac, în care să existe curenți de apă suficient de puternici care sunt indispensabili creșterii sturionilor.

Creșterea și dezvoltarea peștilor are loc între anumite limite a factorilor fizico-chimici ai mediului acvatic.

Însușirile fizice ale apei

Calitatea apei ca mediu de viață poate fi exprimată prin câțiva parametri ce condiționează creșterea peștilor. Dintre aceștia pot fi menționați: Temperatura, adâncimea și presiunea, transparența și culoarea, lumina, mișcarea apei, greutatea specifică, etc.

Temperatura apei constituie unul dintre factorii principali ai mediului de viață acvatic.

Temperatura constituie unul dintre factorii principali ai mediului de viață acvatic. Temperatura apei are o influență indirectă asupra vieții peștilor, în sensul că există și un raport invers proporțional între valorile termice și consumul de oxigen la pești.

Transparența apei este o însușire fizică dependentă de grosimea stratului de apă străbătută de razele solare, de cantitatea de suspensii și natura acestora, cantitatea de lumină ce pătrunde în apă, structura bazinului, etc. Carbonatul de calciu, silicații și argila determină o culoare gălbuie, prezența materiei humice în exces pe cea cafenie, iar dezvoltarea prea mare a algelor, pe cea verde sau verde-albăstrui.

Mișcarea apei favorizează oxigenarea zonelor profunde și omogenizarea temperaturii pe verticală, eliminarea unor gaze toxice.

Greutatea specifică este determinată de conținutul acesteia în săruri minerale solvite, de temperatură și se raportează la 4°C, când densitatea apei are valorile cele mai ridicate.

Însușirile chimice ale apei

Dintre cele mai importante însușiri chimice ale apei, cu influență directă asupra creșterii în bazine acvatice, pot fi menționate: oxigenul dizolvat în apă, bioxidul de carbon, pH-ul, salinitatea, duritatea, sulfații, hidrogenul sulfurat, turbiditatea, capacitatea de tamponare a apei, încărcarea organică etc.

Oxigenul din apă este cel mai important component al apei, care favorizează procesele de oxidare și mineralizare a substanțelor organice, reprezentând și un indicator al intensității procesului de epurare a apei.

Bioxidul de carbon este prezent în apă în cantități mai mari decât în aerul atmosferic. Importanța acestui gaz solvit în apă constă din participarea lui la procesele de fotosinteză și formarea substanței organice, cu mențiunea că depășirea unor concentrații de peste 8 mg CO₂/litru poate avea efecte negative asupra respirației peștilor, devenind factor letal când depășește 50 mg CO₂/litru.

Reacția chimică a apei (pH-ul) este determinată de concentrația acesteia în ioni de hidrogen, consecutiv proceselor fizico-chimice și biologice ale apei. Prezența în apă a calciului conferă acesteia puterea de tamponare sau rezistența pe care o întâmpină față de tendința de acidifiere.

Salinitatea apelor este dată de concentrația sărurilor solvite, care este în strânsă interdependență cu aportul apelor freactice și natura lor, la care se mai adaugă caracteristicile drenajului și a surselor de deversare.

Duritatea apei este determinată de concentrația sărurilor de calciu și magneziu și prezintă o importanță deosebită pentru acvacultură. Duritatea apei se exprimă în grade germane (dGH), 1 dGH fiind echivalent cu 10 mg CaO/l apă.

În apa din sistemul de creștere, valoarea concentrației oxigenului dizolvat trebuie menținută peste 5 mg/l. În caz contrar, peștii devin stresați, nu mai consumă furajele și sunt mai expuși îmbolnăvirilor. Scăderea oxigenului dizolvat sub 3 mg/l sau expunerea îndelungată la concentrații sub 5 mg/l poate duce la asfixierea peștilor. Dacă este necesar, se suplimentează concentrația oxigenului prin aerare sau introducerea de oxigen tehnic.

Parametrii fizico-chimici standard în sistemele de acvacultură intensive și superintensive, care sunt esențiali pentru creșterea și supraviețuirea peștilor și buna lor creștere în captivitate pentru acvacultura sturionilor sunt în general aceiași ca pentru toate speciile de pești care se pretează la acvacultura intensivă și superintensivă în spații strict controlate a peștilor.

Aceștia sunt: transparența apei, detritusul pe substrat și cel din suspensie, culoarea apei, curentul apei, numărul de guri de ieșire a aerului în bazin, adâncimea de aerare a bazinului, înălțimea de la care cade apa recirculată, iluminarea, gradul și sistemul de sterilizare fizico-chimic utilizat, sistemele de filtrare și recirculare utilizate.

Transparența apei. Este determinată în bazinele de acvacultură de cantitatea de detritus aflată în suspensie care este invers proporțională cu performanța sistemelor de filtrare și recirculare din bazinele de acvacultură a peștilor.

Mai mult decât atât, o cantitate mare de detritus neantrenat de pompele de recirculare spre stațiile de filtrare biologică sau curățat de pe substrat ca sediment de către îngrijitori poate duce la două neajunsuri care în timp pot deveni majore și pot produce îmbolnăviri grave, și anume: dezvoltarea disproporțională a unor cyanobacterii algale - alge albastre-verzi (*Merismopedia aeruginosa*, *Mycrocistis aeruginosa*, *Rintaria flos-aquae*) și a unor alge dinoflagelate care produc chiar exotoxine cu efect letal asupra peștilor.

În alte cazuri cantitatea de detritus organic și mineral care se dezvoltă și se sedimentează în strat gros pe substrat nefiind curățat prin sifonare permite dezvoltarea în sediment a bacteriilor anaerobe (sulfobacterii - *Thiobacterium denitrificans*, *Thyobacillus*, etc);

Detritusul pe substrat și cel din suspensie.

Apariția unor boli provocate de bacteria *Aeromonas* care din mediul de acvacultură cu apă murdară trece în stadiul de bacterie parazită infectând în masă, mai ales sturionii mici, de până la stadiul de 2 ani.

Ceea ce este cel mai grav este că nerespectarea perioadelor de igienizare (curative) a bazinului pentru menținerea transparenței apei (schimbul a minim 1/10 din apă în fiecare zi prin eliminarea în primul rând a detritusului) poate duce la compromiterea acvaculturii intensive.

Culoarea apei. Apă trebuie să aibă o transparență maximă astfel încât să se vadă ușor fundul bazinului (la 1-1,40 m adâncime). Atunci când apa nu s-a schimbat la timp culoarea apei poate fi brun-deschisă, semitransparentă (apă veche cu o culoare dată de alge chrisoficee sau de nitriți și nitrați acumulați în cantități foarte mari).

O astfel de colorație indică o apă toxică și trebuie imediat schimbată pentru ca peștii să nu fie predispuși la o serie de îmbolnăviri grave.

Curentul apei. În bazinele naturale sturionii sunt pești parțial reofili (de apă curgătoare). Dar, în condiții de bazin intensiv de acvacultură sau de acvariu reofilia trebuie recreată ca în habitatele naturale ca o mișcare permanentă a apei (râuri, pârauri, zona cu valuri costiere de la țărmul mării). Agitarea și crearea de contracurent duc la oxigenarea apei și la eliminarea din apă în atmosferă a gazelor toxice (CO₂, NH₃, H₂S). Curentul apei este creat de pompe de aer și de pompe de apă (power-head). Pompele de apă sunt de diferite debite la fel ca și pompele de aer. Cu cât sunt mai multe pompe (câte una pentru fiecare bazin) cu atât e mai bine pentru sănătatea peștilor. Dar, la fiecare bazin pe lângă pompele de contra curent (mai ales la bazinele dreptunghiulare mai lungi) se folosesc și pompe de recirculare prin care apa este absorbită și transportată printr-un sistem de conducte la stațiile de filtrare biologică multistrat formate din mai multe straturi, fiecare cu un tip de material filtrant, separate prin niște grătare sau separatoare.

La trecerea apei prin filtrele biologice în fiecare strat de material filtrant, perpendicular, apa umezește pelicula sau filmul bacterian care se dezvoltă pe suprafața fragmentelor de material filtrant.

În funcție de preferința fiecărei specii de bacterie pentru un anumit tip de material suport, în general în fiecare compartiment, pe fiecare tip de material filtrant se dezvoltă un singur tip de bacterie aerobă filtratoare sau cel mult o asociație acvatică sau de mediu umed de bacterii filtratoare. Acest lucru duce la următorul avantaj, și anume are loc creșterea bacteriană, acumularea de biomasă bacteriană, filmul bacterian de pe suprafața materialului filtrant crește în grosime ceea ce duce la o creștere a capacității de filtrare, de mineralizare și transformare a substanței organice din apă reprezentată de detritusul organic în suspensii, de nitriți și nitrați dizolvați în masa apei. Apa trecută prin toate straturile filtrante se epurează treptat de fiecare secvență organică și devine curată la ieșirea din stația de filtrare biologică. În acest loc trebuie amplasată pe conducta de ieșire din stația de filtrare biologică o instalație de sterilizare bacteriană, virală și de deparazitare (stadii de ecoparaziți și endoparaziți ai



peștilor). Instalațiile trebuie să fie calibrate în funcție de debitul de apă instalat pentru recircularea apei în toată ferma de acvacultură și în funcție de volumul total al apei din fermă de acvacultură intensivă. De aceea există posibilitatea să fie instalate două sisteme de sterilizare: un prim sistem este reprezentat de lămpile cu raze ultraviolete de 500, 1000, 2000, 2500, 3000 W în funcție de debitul și secțiunea conductei pe care se instalează, iar un al doilea sistem este reprezentat de ozonizatoare de diferite calibre care prin producerea de ozon, O₃, gaz care se și formează dar se și dezintegrează foarte rapid (în secunde sau milisecunde) care duce la distrugerea rapidă a bacteriilor și a virusurilor de pe conductă după care se transformă rapid în oxigen. Apa supusă tratamentului prin cele două tipuri de sterilizatoare (cu raze UV sau cu ozonizatoare) ajunge curată, regenerată și sterilizată sau liberă de germeni virali, bacterieni, paraziți, fiind tocmai bună pentru o nouă utilizare în acvacultură în condiții de securitate maximă pentru viața peștilor.

Înălțimea de la care curge apa în bazinele de acvacultură. După filtrare și recirculare, apa din bazinele de acvacultură sterilizată este condusă printr-un sistem de conducte cărora li se dă o mică pantă (de 1 cm la 10 m de conductă) spre fiecare bazin în parte. Stația de filtrare sau de epurare trebuie de aceea să fie situată deasupra nivelului bazinelor de acvacultură (cu minim 1–2 m deasupra marginii de sus a vaselor sau a căzilor de acvacultură) pentru a permite curgerea apei. Poate fi astfel considerată rezolvată o problemă în fermă, respectiv locul și înălțimea la care se realizează stația de tratare a apei. Tot la minim 1–2 m înălțime trebuie să fie amplasat și rezervorul cu apă moale (apă curată, declorinată, provenită de la conductă și lăsată într-un bazin mare sau rezervor deschis pentru ca eventualele gaze toxice (de obicei clorul) să iasă la suprafață. De asemenea, trebuie să existe obligatoriu un supraplin al stației de filtrare și al rezervorului de apă moale și curată (apă proaspătă) de unde apa colectată se scurge gravitațional prin rețeaua de conducte direct deasupra bazinelor de acvacultură. Aici printr-un teu individualizat apă ajunge deasupra fiecărui bazin de acvacultură. Distanța de la care curge apa prin deschiderea robinetului este de circa 40-60 cm. Este de preferat ca această distanță să nu fie mai mică pentru că în prealabil, prin căderea apei se mai petrec două procese benefice și anume: oxigenarea apei, căderea apei agită suprafața apei și difuzia gazelor (din apă ies gazele toxice - CO₂, NH₃, H₂S și invers se dizolvă oxigenul pe baza diferențelor de presiune parțială a gazelor din apă și din atmosferă. Această conductă de alimentare cu apă, sau mai bine zis rețea de conducte de apă curată cu robineti individuali pentru fiecare bazin în parte este dublată de o a doua rețea de conducte de apă recirculată care este de același calibru (magistrale de conducte de polietilenă sau de polipropilenă de presiune - groase în carne - și de diametre de 1-3 țoli), în funcție de mărimea fermei și numărul vaselor de acvacultură din fermă intensivă sau superintensivă.



Foto 28. Diferite forme ale bazinelor de acvacultură.

Se utilizează bazinele din fibră de sticlă sau betonate de formă dreptunghiulară, octogonală sau rotundă cu sifon de evacuare de fund și sifon lateral de supraplin. Apa este colectată printr-o rețea de canale situate sub bazine, ce duc prin canale colectoare spre un bazin sorb situat sub nivelul substratului bazinelor astfel încât să se permită la nevoie (la curățarea și golirea bazinelor) o golire totală și dezinfecția și curățarea sau repararea acestora. Din bazinul sorb de colectare apa este pompată cu o pompă de debit de mare putere, de recirculare la stația de filtrare. Se utilizează pompe profesionale cu fiabilitate foarte bună (Grundfos sau Gezyer).



Foto 29. Bazin octogonal din beton pentru acvacultură

Cu astfel de pompe de mare putere (cu leșirea cu secțiune de 1–3 țoli) apa este pompată din bazin și dusă la înălțime în partea opusă a fermei de stația de filtrare și recirculare pentru epurare și sterilizare. În ultima vreme se utilizează și bazine de acvacultură rotunde și cu fundul conic cu golirea de fund plasată central, pentru ca detritusul să se acumuleze ca sediment doar pe fund și să poată fi golit rapid. Aceste vase de acvacultură sunt confecționate din fibră de sticlă și rășini poliamidice (PAFS) și au un diametru de 3–5 m.



Foto 30. Bazine pentru creștere intensivă, ferma Horia – Kaviar House.

Există și bazine confecționate din folie de polietilenă susținută de un cadru de aluminiu. Au diametre de 4,5 metri și înălțimea colanei de apă de 1,2–1,4 m.

Illuminarea bazinelor de acvacultură trebuie să fie în directă corelație cu tipul de fermă intensivă sau spațiu controlat care s-a realizat.

Într-o fermă de tip hală industrială opacă confecționată din aluminiu și PVC care se vopsește după asamblare și în care practic este întuneric, sistemul de iluminare pentru fiecare bazin este absolut indispensabil fiind realizat din lămpi antigron – lămpi cu tuburile de neon și droserile – transformatoarele de 20, 40, 60W și starterele închise în corpul lămpii, astfel ca acestea să nu fie corodate de mediul atmosferic din baza de acvacultură – atmosfera putând atinge și o concentrație de suprasaturare în vapori de apă de 97–99%.

Pentru fermele de acvacultură realizate în spații controlate de tip seră (cu acoperișul transparent confecționat din polietilenă, PAFS, geam de sticlă sau policarbonat) nu sunt necesare lămpi sau becuri individuale pentru fiecare bazin. Este nevoie doar de o iluminare de tavan utilizată noaptea, iluminarea naturală pentru pești fiind suficientă. Pentru acvacultura sturionilor, halele de tip seră însă, în zilele caniculare de vară se pot supraîncălzi și sistemele de ventilație la 45–46°C temperatura aerului nu mai pot face față. De aceea, halele de tip seră se acoperă vara cu folii sau cortine opace, cu suprafața de deasupra reflectorizantă pentru a nu supraîncălzi sera. Este cunoscut faptul că iluminarea directă a bazinelor, chiar și cea solară, stresează peștii, practic toate speciile de sturioni.



Foto 31. Bazine alevini amplasate în hala termoizolată, Horia, Kaviar House.

Ventilația. Fermele de acvacultură și de încercare și testare sau de modelări experimentale prin îmbunătățirea sistemelor de acvacultură intensivă și superintensivă în spații strict controlate a sturionilor ca și a altor specii de pești necesită pentru o bună controlare a mediului de acvacultură și un control perfect al atmosferei interne (spațiu atmosferic intern în fermă strict controlat din punct de vedere al temperaturii și conținutului de oxigen și de dioxid de carbon, amoniac, hidrogen sulfurat).

Gazele toxice trebuie eliminate rapid iar oxigenul trebuie reintrodus permanent din atmosfera exterioară. Se utilizează în acest scop un sistem de aer condiționat pentru fermele mici sau ventilatoare mari plasate lateral la nivelul geamurilor. Ventilatoarele trebuie să aibă o forță și un debit care să creeze vara în interiorul fermei un mic curent care împropățează permanent aerul, cu efect benefic asupra schimbului de gaze dintre apă și aer.

Aerarea. Pentru buna creștere a peștilor, primul caracter sau prima condiție pentru recirculare o constituie buna aerare a bazinelor de acvacultură. Cu cât sunt mai mulți pești cu atât trebuie să fie mai multe guri de aerare (pietre de aerare). Pentru ca prin barbotarea aerului piatra de aerare cu furtun cu tot să nu se balanseze sau să se ridice deasupra și să plutească, se fixează câte o greutate de plumb ca un inel pe furtun la nivelul racordului cu piatra pentru ca aceasta să fie ținută suspendată în josul bazinului.

Parametrii chimici de acvacultură. Sunt foarte importanți pentru menținerea calității apei din bazinele de acvacultură, respectiv de creștere a peștilor de interes economic. De aceea, este foarte important să se țină seama în permanență de factorii chimici prezenți în continuare:

1. Cantitatea de O₂ dizolvat în apă;
2. CO₂ solvit în apă rezultat din metabolismul peștilor (respirație) și a altor hidrobionți (respirația și procesele fermentative realizate de bacteriile anaerobe);
3. NH₃ și H₂S rezultat din denitrificarea anaerobă realizată de sulfbacteriile anaerobe din sistemele de pe fund dacă acestea sunt puțin aerate;
4. Duritatea totală reprezentată de cantitatea de ioni liberi din apa de acvacultură (Na, K, P, Cl, Mg, Ca, Li, I, etc.), dar și de ioni toxici, ajunși accidental în apă (de metale grele) care pot omorî peștii sau afectează organele interne (ficatul și branhiile, depunându-se în mușchi) și fiind foarte toxici pentru consumul uman.

Duritatea este determinată și de conținutul de săruri, cele mai importante pentru funcționarea metabolismului fiind următoarele săruri: NaCl, CaCl₂, MgCl₂, CaSO₄, Na₂SO₃, KCl, K₂SO₄. Concentrația sărurilor în apa fluviilor în care trăiesc sturionii o parte a vieții lor ca și a marilor lacuri variază între 3 și 60 mg săruri la 1.000 ml de apă.

Concentrația salină a mărilor variază după cum urmează: mări dulci – M. Caspică (3–80%), mări salmastre – M. Azov (7–16%), M. Neagră (7–22%), mări oceanice – M. Mediterană (36%), mări hipersaline – Golful Persic (48%), M. Moartă (48–50%).

Peștii însă s-au adaptat în captivitate la concentrații cât mai apropiate de condițiile din natură în care aceștia trăiesc. Este esențial ca duritatea apei să fie constantă și asemănătoare cu cea din mediul de baștină și în cazul când se mută peștii dintr-un bazin într-altul.

Trecerea bruscă, de exemplu din mediul marin a sturionilor în apă dulce și viceversa poate duce la un șoc osmotic la nivelul epiteliului respirator branhiat pe baza diferențelor de presiune a gazelor dizolvate din sânge și din apa de acvacultură, procesele metabolice, blocate pe moment, putând pune în pericol viața peștilor. Duritatea bună este de 18–20 grade germane.

pH-ul sau aciditatea apei este determinat de concentrația ionilor de H⁺ din apă și OH⁻ pH-ul neutru, de 7 – 7,6 este cel mai bun pentru acvacultura sturionilor, ei putând să reziste fără probleme și la un pH de maxim 8–8,2 și de minim 6, sub acest nivel apărând probleme de osmoreglare.

Oxigenul dizolvat în apă este consumat rapid de pești, de aceea în condiții de acvacultură intensivă el este pompat permanent în apă cu ajutorul pompelor de mare debit de aer.

CO₂ eliminat este difuzat rapid în atmosferă prin barbotarea realizată de aerare. Acești factori împreună cu cei fizici reprezintă factori de mediu de acvacultură care trebuie să fie monitorizați în permanență. Pentru acest lucru pentru înregistrarea pH-ului se utilizează pH-metre de teren de tip stilou cu precizia de 2 zecimale pentru estimarea durității apei și se utilizează un densimetru dar, mai bun este un conductivmetru de precizie care măsoară practic conductivitatea sau conductanța electrică realizată în apă de ionii principalelor săruri existente în apă și concentrațiile la care se găsesc aceștia.

În urma studiului realizat, se pot desprinde următoarele concluzii mai importante:

Bazinele să fie confecționate din materiale ușor de igienizat (fibră de sticlă sau polipropilenă), de formă circulară, adâncimea apei să nu fie mai mare de 120-180 cm, densitatea la populare în sistemul superintensiv să fie în medie de 40 kg/mc apă, cu sistem suplimentar de aerare.

Pentru asigurarea unor parametri fizico-chimici optimi ai mediului este foarte important să se asigure un sistem de filtrare și recirculare corespunzător în bazinele de acvacultură și respectarea perioadelor de igienizare a bazinelor. De asemenea, este

important ca apa să se schimbe în mod corespunzător, pentru evitarea acumulării substanțelor toxice și a îmbolnăvirii peștilor.

Este foarte importantă de asemenea agitarea și crearea de contracurent care determină oxigenarea apei și eliminarea din apă în atmosferă a gazelor toxice.

Pentru buna funcționare a filtrului biologic este absolut necesară perioada de aclimatizare (încărcarea treptată a sistemului cu material biologic) perioadă în care parametri fizico-chimici se stabilizează.

Un alt aspect important pentru asigurarea unor parametri fizico-chimici de calitate ai mediului este reprezentat de locul și înălțimea la care se realizează stația de filtrare, care trebuie să fie situată deasupra nivelului bazinelor de acvacultură, cu minim 1–2 m peste marginea de sus a vaselor sau a căzilor de acvacultură.

Un alt aspect important este cel al iluminării, cunoscut fiind faptul că iluminarea directă a bazinelor, chiar și cea solară, stresează toate speciile de sturioni.

În ceea ce privește pH-ul apei, în creșterea sturionilor se recomandă un pH neutru, de 7 – 7,6 care este cel mai favorabil pentru acvacultura sturionilor, ei putând să reziste și la un pH de maxim 8–8,2 și de minim 6, sub acest nivel apărând probleme de osmoreglare.

În ceea ce privește oxigenul dizolvat în apă, în condiții de acvacultură intensivă, valorile optime recomandate pentru sturioni sunt între 12–18 mg %.

Bioxidul de carbon eliminat trebuie să fie difuzat rapid în atmosferă prin barbotarea realizată de aerare.

În concluzie, factorii fizico-chimici ai mediului de acvacultură trebuie să fie monitorizați în permanență pentru a asigura condiții corespunzătoare și performanțe superioare în creșterea intensivă a sturionilor.

Lansarea puilor în incintele de creștere se va face numai în condițiile în care oxigenul are valori optime, respectiv cel puțin 7 mg/l, iar temperatura apei din incintă este egală cu temperatura apei în care aceștia au fost transportați. Dacă nu este îndeplinită această condiție se impune oxigenarea apei din incinta de creștere până la nivelul de saturație impus de temperatură.

Debitul de alimentare va fi stabilit între 15-19 l/min până când puietul atinge greutatea de 100 g, ulterior acesta va fi reglat la 25-30 l/min.

Imediat după populare materialul biologic va fi intens monitorizat pentru a urmări modul de adaptare la noile condiții de mediu.

Concomitent cu aceasta se va monitoriza la interval de trei ore parametri fizico-chimici ai apei tehnologice, respectiv temperatura, oxigenul, azoții și amoniacul. Săptămânal se vor face analize chimice complete ale apei tehnologice.

2.2. Monitorizarea parametrilor de calitate a apei

Pentru monitorizarea parametrilor fizico-chimici ai apei s-au utilizat următoarele instrumente și echipamente:

- Concentrația de oxigen dizolvat a fost măsurată cu oximetrul WTW Oxi 315 i.
- PH-ul a fost măsurat cu pH metrul WTW, model pH 340
- Concentrațiile de NH_4^+ , NO_2^- și NO_3^- au fost măsurate cu ajutorul fotometrului Lovibond PC 22.
- Conductivitatea a fost măsurată cu ajutorul conductometrului tip WTW.

În cadrul acestui experiment apa utilizată provine din Dunăre. Pe perioada experimentului am beneficiat de o temperatură optimă și anume de 18°C.

Temperatura apei are o influență indirectă asupra vieții peștilor, în sensul că există și un raport invers proporțional între valorile termice și consumul de oxigen la pești.

Bazinele în care au fost populate larvele au fost amplasate în interiorul unei hale bine izolate termic și cu o iluminare discretă astfel încât să se creeze condiții optime de iluminare necesare unei dezvoltări armonioase a larvelor.

Mișcarea apei favorizează oxigenarea zonelor profunde și omogenizarea temperaturii pe verticală, eliminarea unor gaze toxice.

În cadrul experimentului prezentat s-a procedat la verificarea concentrației oxigenului în fiecare bazin în parte la fiecare trei ore.

În acest sens a fost utilizat un oxigenmetru portabil de laborator.

Tabelul 14. Parametrii fizico-chimici optimi pentru mediul de acvacultură

Parametru	Concentrația (mg/l)
Alcalinitate (CaCO_3)	50–300
Aluminiu (Al)	<0.01
Amoniac ($\text{NH}_3\text{-N}$ neionizat)	<0.0125 (Salmonide)
Argint (Ag)	<0.003
Azot (N_2)	<110% presiunea totală a gazelor
	<103 % azot gazos
Azot amoniacal total (TAN) - specii de apă rece	<1.0
Azot amoniacal total (TAN) - specii de apă caldă	<3.0
Arsenic (As)	<0.05
Bariu (Ba)	<5
Cadmium (Cd)	<5

Alcalinitate < 100 mg/L	<0.0005
Alcalinitate > 100 mg/L	<0.005
Calciu (Ca)	4–160
Clor (Cl)	<0.003
Cupru (Cu)	
Alcalinitate < 100 mg/L	0.006
Alcalinitate > 100 mg/L	0.03
Dioxid de carbon (CO ₂)	
Specii tolerante (tilapia, crap)	<60
Specii sensibile (salmonide)	<20
Duritate (CaCO ₃)	>100
Fier (Fe)	<0.15
Fosfor (P)	0.01–3.0
Hidrogen sulfurat (H ₂ S)	<0.002
Magneziu (Mg)	<15
Mangan (Mn)	<0.01
Mercur (Hg)	<0.02
Nitrit (NO ₂)	<1, 0.1 ape puțin dure
Nitrat (NO ₃)	0–400
Nichel (Ni)	<0.1
Oxigen Dizolvat (DO)	>5
Ozone (O ₃)	<0.005
pH	6.5–8.5
Potasiu (K)	<5
Plumb (Pb)	<0.02
Salinitate	În funcție de biologia speciei
Seleniu (Se)	<0.01
Sodiu (Na)	<75
Sulfat (SO ₄)	<50
Sulf (S)	<1
Solide dizolvate totale (TDS)	<400 (În funcție de specie)
Solide totale în suspensie (TSS)	<80

Rezultatele monitorizării s-au înscris în limite admisibile pentru o bună creștere a lotului supus experimentului. Nu s-au înregistrat valori ale oxigenului sub 6% saturație.

Determinarea concentrației dioxidului de carbon s-a realizat în cadrul stației sturionicole Isaccea o dată pe luna prin examen de laborator a apei de acvacultură.

Parametrii identificați în cadrul analizelor situându-se în limite admisibile.

Verificarea PH-ului în cadrul experimentului s-a realizat în fiecare zi cu ajutorul unui PH – mertu de laborator. Nivelul înregistrat al pH-ului situându-se între 7.2 și 7.6.

Duritatea apei a fost determinată o dată pe lună prin analize de laborator și s-a situat între 10 și 12, încadrându-se în plaja recomandată pentru creșterea sturionilor. Pentru asigurarea unor parametri fizico-chimici optimi ai mediului s-a acordat o atenție foarte mare utilizării unui sistem de filtrare corespunzător în bazinele de acvacultură și respectarea perioadelor de igienizare a bazinelor. De asemenea, foarte important a fost ca debitul apei să

fie adaptat corespunzător astfel încât să permită menținerea parametrilor optimi de creștere, pentru evitarea acumulării substanțelor toxice și a îmbolnăvirii larvelor.

Igienizarea s-a realizat pentru fiecare incintă înainte de fiecare hranire prin utilizarea de bureți imbibati în soluție salină. O dată pe săptămână s-au făcut tratamente preventive cu soluție de albastru de metilen 1%, 10 ml/bazin.

O atenție deosebită a primit de asemenea agitărea și crearea de contracurent care determină oxigenarea apei și eliminarea din apă în atmosferă a gazelor toxice.

În acest sens au fost utilizate instalații de aerare suplimentară constând în pompe de aer cu difuzoare adecvate fiecărei unități de creștere în parte, îmbunătățind aportul de oxigen și pentru ca dioxidul de carbon eliminat să fie difuzat rapid în atmosferă prin barbotarea realizată de aeratoare.

Un alt aspect important pentru asigurarea unor parametri fizico-chimici de calitate ai mediului a fost reprezentat de locul și înălțimea la care s-a amplasat stația de filtrare, deasupra nivelului bazinelor de acvacultură, cu 1,5 m.

În concluzie, principalii factori fizico-chimici ai mediului de acvacultură au fost monitorizați în permanență pentru a asigura condiții corespunzătoare de creștere a lotului supus experimentului.

Parametrii fizico-chimici ai mediului de incubatie, care sunt permanent monitorizați în cadrul stației modulare Isaccea sunt: pH-ul, oxigenul dizolvat (mg/l), duritatea totală (dGH), nitriții (mg/l), saturație în gaze (%), amoniac (mg/l), salinitate (%), temperatura (°C).

2.3. Indicatori biotehnologici

La sfârșitul experimentului după ce peștii au fost cântăriți și măsurați s-au calculat următorii parametri: sporul de creștere, factorul de conversie a hranei, rata specifică de creștere, și eficiența utilizării proteinei folosind următoarele ecuații:

- Sporul de creștere (W) = Greutatea finală (W_t) – Greutatea inițială (W_0) (g)
- Factorul de conversie al hranei (FCR) = Cantitatea totală de furaj (F) / Spor de creștere (W) (g/g)
- Rata specifică de creștere (SGR) = $100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$ (% BW/zi)
- Rata relativă de creștere a fost exprimată prin raportarea sporului de creștere la greutatea metabolică în scopul minimizării diferențelor privind metabolismul bazal al peștilor de diferite dimensiuni (Hepher, 1988): $(RGR_m) = (W_t - W_0) / t / BW^{0.8}$ (g/kg/zi).
- Coeficientul de eficiență proteică (PER) = Spor total de creștere (W) / cantitatea de proteină ingerată (g)

- Factorul alometric de condiție s-a calculat conform ecuației: $K = W \cdot 100 / L^b$ unde b este un coeficient estimat cu ajutorul ecuației de regresie lungime/masă: $W = a \cdot L^b$

2.4.Prelucrarea statistică a datelor

Analiza statistică a fost realizată cu ajutorul programului SPSS 15.0 pentru Windows. Normalitatea distribuției a fost verificată cu ajutorul testului Kolmogorov-Smirnov Z. Diferențele statistice între variabile au fost testate prin folosirea testului t (comparații între medii, semnificație $p < 0.05$) și a testului ANOVA. Omogenitatea varianței a fost testată cu ajutorul testului Levene. Testarea post-hoc pentru stabilirea subseturilor s-a realizat cu ajutorul testelor Bonferroni, Duncan și Tukey's-B.

EXPERIMENTE PRIVIND REPRODUCEREA ARTIFICIALĂ, ALEVINAJUL ȘI CREȘTEREA INTENSIVĂ LA NISETRU

3.1. Rezultate și discuții privind reproducerea artificială la nisetru

În cazul experimentului privind reproducerea artificială a speciei *Acipenser guldenstaedti* s-a urmărit optimizarea principalelor faze ale procesului tehnologic din cadrul stației de reproducere artificială Isaccea, descrise în cele ce urmează.

Capturarea reproducătorilor: Reproducătorii utilizați la reproducerea artificială au fost capturați din sectorul fluvial Mm 53 - Mm 76 și în zona Grindu – Isaccea (Tabelul nr 15). Capturarea s-a realizat cu ave în derivă, acestea având latura ochiului de 60-100 mm, în timpul migrației de primăvară la o temperatură a apei Dunării de 10-18°C. Alegerea reproducătorilor s-a realizat ținându-se cont de următoarele caracteristici: femelele prezentau abdomenul mărit, moale la apăsare, pe suprafața corpului secretându-se o mai mare cantitate de mucus, porul genital fiind de culoare roșiatică; în cazul masculilor, care au corpul mai suplu și mai alungit decât femelele, abdomenul apare, de asemenea, moale la palpare și porul genital mai colorat. Timpul de retenție a materialului în zonă, din momentul pescuirii până la momentul transportului, a fost scurt, urmărindu-se necumularea unui număr mare de ore care ar fi indus un stres suplimentar reproducătorilor.

Tabel 15. Tablou sintetic privind momentul și zonele de captură precum și caracterele biometrice ale exemplarelor utilizate la reproducerea artificială

Data Capturării	Zona de captură	Sexul Reproducător	Greutate reproducător (Kg)	Lungime reproducător(cm)
11.04.2004	Brațul Chilia – Pardina km 75	Mascul	7	103
17.04.2004	Brațul Chilia – Pardina km 95	Mascul	11	105
22.04.2004	Brațul Chilia – Pardina km 85	Femelă	16,5	117
02.05.2004	Brațul Chilia – Pardina km 80	Mascul	15	120

Transportul reproducătorilor la stația de reproducere Isaccea s-a realizat în condiții de păstrare a integrității materialului biologic. În acest sens s-au utilizat bărci din fibră de sticlă de dimensiuni adecvate.

Parcarea reproducătorilor. Toți reproducătorii au fost parcați în bazine betonate din ciment, izolate cu fibră de sticlă la interior, cu diametru de șase metri și adâncimea de 1,5 metri. Alimentarea bazinelor s-a realizat cu apă din Dunăre, filtrată mecanic și tratată cu raze U.V. S-a asigurat, în permanență, un flux de apă proaspătă, printr-un debit de aproximativ 6 litri pe secundă. Temperatura pe perioada parcării reproducătorilor a fost cuprinsă între 14 și 17 °C. Oxigenul a înregistrat valori cuprinse între 7 și 9 mg/l iar pH-ul a înregistrat valori relativ constante de aproximativ 7,2±0,2.



Foto 32. Parcarea reproducătorilor de nisetru în bazine circulare alimentate în flux continuu cu apa din Dunăre. Stația de reproducere Isaccea.

Evaluarea gradului de maturare a gonadelor. Metoda de evaluare a gradului de maturare a gonadelor, cunoscută și uzitată constant de numeroși tehnologi, este reprezentată de puncția abdominală.

Deși metoda menționată prezintă un înalt grad de siguranță în aprecierea stadiului de maturare a gonadelor este considerată o metodă invazivă care afectează integritatea corporală a reproducătorului, putând contribui la declinul fiziologic declanșat de penetrarea și proliferarea agenților patogeni la nivelul plăgii create prin puncție. Pentru a contracara aceste efecte secundare, în anul 2008, am folosit, pentru prima dată în România, metoda scanării ecografice a gonadelor la sturionii în vederea stabilirii sexului reproducătorilor și a gradului de maturare al acestora. Astfel, în cadrul campaniei de reproducere a sturionilor la Stația Isaccea am experimentat o metodă de sexare nedistructivă/precoce prin folosirea tehnicii de ecografie pentru remonți și aprecierea gradului de maturare al reproducătorilor.

Pentru atingerea acestui obiectiv am achiziționat un ecograf portabil marca „Veterinary Palm Smart B Ultrasound Scanner Wed-3000V”. Peștii folosiți au fost în prealabil aneșteziați prin electronarcoză, reducând la maximum stresarea lor prin manipulare.

Selecționarea potențialilor reproducători la stația Isaccea s-a făcut cu câteva zile înainte de stimularea hormonală. Pentru identificarea sexului și a stabilirii gradului de maturare a reproducătorilor am folosit pentru început metoda palpării, metoda puncției și metoda ecografică.

Momentul reproducerii l-am stabilit în funcție de evoluția maturării gonadelor evaluând în acest sens gradul de polarizare a ovocitelor și migrarea veziculei germinale în funcție de care s-a calculat coeficientul de polaritate.

Stimularea hormonală a reproducătorilor. Stimularea hormonală s-a realizat în două etape, intervalul dintre administrarea primei doze injectabile și cea de-a doua injectare fiind de aproximativ 12 ore. Injecțiile au fost efectuate cu menținerea sub apă a reproducătorilor.

În cadrul experimentului de față, pregătirea operațiunii de reproducere a început în data de 05.05.2004, cu dezinfectarea stației de reproducere și a instrumentarului. În data de 06.05.2004 s-a realizat prima injectare a reproducătorilor cu Neristina 5 A urmărindu-se schema prezentată în tabelul 16.

Tabel 16. Dozele hormonale utilizate la reproducerea artificială a nisetrului

Reproducător	Greutate Reproducător (kg)	Doza hormon (ml) Neristina 5 A	Pondere din doză totală
Prima injectare: 06.05.2004 orele 8 .00			
Femela 1	16,5	0,66	20%
Mascul 1	7	0,14	20%
Mascul 2	11	0,22	20%
Mascul 3	15	0,30	20%
A doua injectare: 06.05.2004 orele 20 .00			
Femela 1	16,5	2,64	80%
Mascul 1	7	0,56	80%
Mascul 2	11	0,88	80%
Mascul 3	15	1,20	80%

Începând cu data de 07.05.2004, ora 10 s-au făcut verificări periodice (cel puțin o dată pe oră) a bazinului în care a fost parcată femela injectată. În jurul orei 13 au apărut primele icre lipicioase, semn că avem o femelă aptă pentru reproducere. În acest interval, temperatura apei s-a menținut în jurul valorii de 17°C. La ora 13.15 a fost anesteziată femela și s-a procedat la recoltarea icrelor prin mulgere.

Colectarea produselor sexuale s-a realizat prin mulgere, efectuând un masaj ușor ce a permis icrelor să se prelingă ușor și fără cheaguri de sânge și membrane.

Operațiunea a durat 12 minute, timp în care s-au recoltat 2,4 kg de icre. Recoltarea s-a realizat în șase vase din plastic cu fundul lipsit de asperități, fiecare având capacitatea de 4 kg. Vasele au fost dezinfectate în prealabil și foarte bine uscate. Icrele au fost împărțite în porții aproximativ egale.

Imediat după această operațiune s-a procedat la prelevarea spermei de la cei trei masculi. S-au recoltat cantități aproximativ egale a câte 8-10 ml de la fiecare exemplar. S-a verificat viabilitatea spermatozoizilor cu ajutorul unui microscop și s-a constatat că toți masculii au dat sperma de calitate.



Foto 33. Colectarea produselor sexuale la nisetru în cadrul Stației Sturionicole Isaccea

Fecundarea s-a realizat prin „metoda uscată”, prin care, înainte de fecundare, sperma se diluează în raport de 1 ml sperma la 40 ml apă, în vederea obținerii mobilității spermatozoizilor. Acest amestec se adaugă peste icrele curate obținute prin mulgere după ce s-a scurs, în prealabil, lichidul ovarian. Pentru fecundarea unui kg de icre de nisetru s-a folosit 200 ml amestec. După aproximativ un minut de agitare a vasului folosit se mai adaugă încă 100-200 ml apă și se mai agită încă 2 minute, după care se îndepărtează partea lichidă menținându-se ovulele fecundate.

Descleierea icrelor. S-a realizat prin efectuarea unei serii de 6 spălări consecutive cu suspensie de 5% nămol. Mixajul folosit pentru descleiere a fost filtrat și ajustat până la valoarea 7 g/l a pH-ului. S-au folosit până 5-6 volume de supernatant la un volum de icre. Durata a fost de 2 – 3 minute pentru fiecare spălare și la finalul operațiilor de descleiere a urmat limpezirea în mai multe volume de apă curată. Atunci când ovulele fecundate nu au mai prezentat aderență au fost transferate în incubatoare.



Foto 34. Descleierea icrelor fecundate

Incubația. Incubatoarele utilizate de stația Isaccea sunt cele de tip Zug-Weiss, Aparatul este alimentat pe la partea inferioară, cea tronconică, curentul este central, ușor lateral. La partea superioară este prevăzută cu un manșon ce asigură direcționarea larvelor eclozate într-un jgheab de colectare



Foto 35. Baterii de incubatoare Zug-Weiss cu sistem de reglare și control automat a debitului de alimentare

În fiecare din cele 4 incubatoare folosite în experimentul de față s-au introdus aproximativ 350 grame icre fecundate. Greutatea medie a unei icre embrionate a fost de 35,05 mg. La două zile de la incubare icrele embrionate din patru incubatoare au fost pregătite pentru livrare. În acest sens s-a realizat o verificare a procentului de icre fertile. S-au recoltat 100 icre din fiecare incubator și s-au separat cu ajutorul unui monocular numărul de icre embrionate în evoluție. Astfel s-a constatat că procentul de viabilitate a variat între 85% pentru incubatorul 1 și 88% pentru incubatorul 3 (Figura 13)

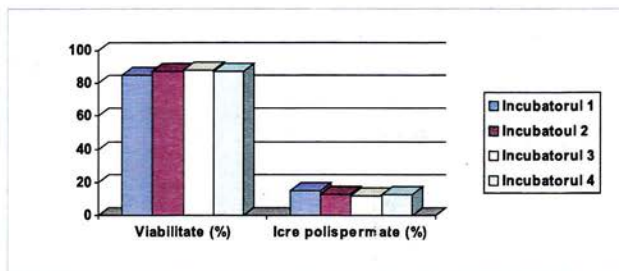


Figura 13. Viabilitatea și ponderea icrelor polispermate

Pentru cele 4 incubatoare icrele au fost cuantificate numeric iar greutatea acestora a fost determinată volumetric. Astfel, în total au fost incubate 1226 grame icre, respectiv 35000 icre. Temperatura pe durata incubării a variat între 17 și 19 grade, în timp ce oxigenul a oscilat între 6,5 și 8,8 mg/l. În cea de-a cincea zi de la fecundare, larvele au început să eclozeze. La început, procesul a fost lent dar după 5-6 ore a început eclozarea masivă care a durat aproximativ 8 ore. În incubatoare au rămas aproximativ 20% din totalul icrelor fecundate introduse. Acestea au urmat să eclozeze treptat timp de 24 ore după care s-a întrerupt procesul și incubatoarele au fost eliberate.



Foto 36. Icre embrionate de nisetrul (*A. guldenstaedti*) la șase ore de la incubare

Pe măsură ce larvele eclozau, acestea evadau în brutine iar de aici erau prelevate și transvazate în bazine circulare de fibră de sticlă în vederea dezvoltării postlarvare. După ce larvele au fost populate, acestea au fost monitorizate în funcție de oră și ziua când au eclozat. Astfel, au fost populate cu câte 2000 larve de nisetrul, opt bazine circulare din fibră de sticlă (180 l/bazin), cu diametrul de 120 cm și o înălțime a coloanei de apă de 15 cm. S-a asigurat astfel o densitate de 11.000 larve/m³. Înălțimea de 40 cm a bazinelor, a permis, ca pe măsura dezvoltării larvelor, înălțimea coloanei de apă să fie ajustată la cerințele biomasei



Foto 37. Aspecte din timpul eclozării larvelor în Stația de reproducere a sturionilor Isaccea

3.2. Rezultate și discuții privind crioconservarea spermei la sturioni în stația de reproducere Isaccea

Crioconservarea reprezintă metoda de a păstra țesuturile vii la temperaturi foarte joase în contextul menținerii structurii și funcțiilor lor biologice după decongelare. Până în prezent, tehnologiile de crioconservare a spermei au fost testate și validate pentru multe specii de pești (Chao și Liao, 2001). Această metodă oferă numeroase avantaje precum: protecția stocurilor naturale care, în contextul unor dezastre naturale, ar fi complet eliminate; furnizarea de sperma pentru utilizarea ei în reproducerea artificială, independent de variațiile climatice, sau pentru testări experimentale; facilitarea lucrărilor de ameliorare genetică și de inginerie genetică (transfer de gene).

Principiul de crioconservare constă în producerea de celule deshidratate cu prejudiciu minim, astfel încât cristalizarea apei sub formă de gheață în citosol este redusă la minimum în timpul răcirii în azot lichid. Majoritatea prejudiciilor pot apărea în contextul procesului de îngheț și dezgheț, în timpul procesului de crioconservare convențională, în cadrul căruia, ecartul termic foarte mare și timpul mic de expunere generează șoc termic când probele sunt dezghețate (Chao și Liao, 2001).

Taddei et al. (2001), a arătat că crioprejudiciile au loc în timpul pre-congelării și post-decongelării, la temperatura cuprinsă între 0 și -40°C. Alte cauze posibile generatoare de deficiențe funcționale la nivelul țesuturilor includ fluctuație pH-ului, formarea de cristale de gheață, presiune osmotică și toxicitatea crioprotectorului (Chao și Liao, 2001). Primele studii de crioconservare a spermei de sturioni au fost efectuate în URSS și au fost publicate de Burtsev și Serebryakova (1969). Aceste studii, care s-au finalizat cu rezultate nu foarte optimiste (mai puțin de 1% fertilizare) au fost continuate cu mai mult succes (cu 40% motilitate și 35% fertilizare) de Kasimov et al. (1974) și Pushkar. (1979, 1980).

Eluenți și crioprotectanți. În domeniul crioconservării, eluenții au fost foarte bine studiați, deoarece crioconservarea este dificilă sau chiar imposibilă fără prezența lor. Un eluent (extender) este un mediu utilizat pentru a dilua sperma și pentru a obține o cantitate

mai mare de sperma diluată, în timp ce un crioprotector este un material care, adăugat într-o spermă diluată protejează spermă de șocuri termice și criotoxicitate în timpul procesului de crioconservare (Muchlisin, 2004).

Peștii produc spermă cu vâscozitate mare și, în unele cazuri, în cantități foarte mici. Eluenții joacă un rol vital în crioconservare, fiind necesari pentru diluarea spermei, și, în general, pentru inducerea unei motilități inițiale și pentru creșterea capacității de fertilizare a spermei crioconservate. Este cunoscut faptul că spermatozoizi pot fi păstrați pentru o zi sau pentru perioade foarte lungi, timp în care motilitatea ar putea fi păstrată prin menținerea unei temperaturi scăzute constante.

Soluția fiziologică și soluția Ringer sunt utilizate în mod frecvent ca eluenți pentru crioconservare din simplul motiv că sunt foarte ușor de pregătit. O soluție fiziologică conține 7.98 g/L NaCl și 0,2 g/L NaHCO₃ (Alawi et al, 1995.), în timp ce, soluția Ringer, cel mai frecvent utilizată pentru crioconservarea spermei de pești de apă dulce, conține 7,5 g/L NaCl, 0,2 g/L KCl, 0,20 g/L CaCl₂, 0,20 g/L și NaHCO₃.

Ca și eluenții, crioprotectanții joacă un rol important în crioconservare, în special pe termen lung. Crioprotectanții sunt necesari pentru a proteja celula spermatică de tratamentele șoc rece- cald și pentru a preveni deshidratarea celulei. Crioprotectanții asigură crioprotecție enzimelor labile, de exemplu catalazei, și să stabilizeze proteinele în soluții apoase dezghețate. Aceștia pot preveni, de asemenea, formarea gheții în timpul precongelației, dar aceleași concentrații de crioprotectanți pot deveni letale pentru celula neînghețată (Chao, 1991). Principalele neajunsuri în utilizarea crioprotectanților constau în faptul că pot induce denaturarea proteinelor la temperaturi mari și pot cauza toxicitate în sistemele celulare. Toxicitatea diluanților este o limitare majoră pentru succesul crioconservării spermatozoizilor de pești. În general, crioprotectanții conțin clorură de sodiu (NaCl) sau clorura de potasiu (KCl), rareori zaharoză, în soluții tampon la pH 8-8.5, cu Tris-HCl până la concentrații de până la 150 mM. Ciereszko et al. (1996) a utilizat o combinație de glicină (30 mM) și Tris (20 mM) ca mediu tampon. De asemenea, dimetil-sulfoxidul (DMSO), metanolul și etilenglicolul au fost cel mai frecvent utilizați crioprotectanți; DMSO a dat cele mai bune rezultate atunci când a fost utilizat pentru conservarea spermei sturionilor din zona Ponto-Caspică. Cercetările efectuate de Cherepanov and Kopeika (1999) and Horvath and Urbanyi (2000) au evidențiat o mai bună capacitate de fertilizare prin utilizarea spermei crioconservate cu metanol (fertilizare 22 %; tabelul 1), comparativ cu DMSO (2%) și acetat de dimetil (DMA) (0%). Glogowski et al. (2002) a folosit, de asemenea, metanolul ca crioprotectant pentru spermă de sturion Siberian. Gălbenușul de ou s-a utilizat ca crioprotector non-permeant care, uneori, s-a adăugat în conservant.

Diluția. În cele mai multe cazuri diluția se realizează prin amestecarea unui volum de sperma cu un volum de eluent. Studiile efectuate de Gallis et al, (1991) au arătat că

motilitatea spermatozoizilor a scăzut drastic după această diluție datorită presiunii osmotice (> 100 mOsm/kg). KCl poate fi adăugată la eluent dar concentrația ar trebui să fie mult mai mică de 0.1 mM, după diluția finală. În general, echilibrarea nu este necesară, după adăugarea eluentului sperma trebuie să fie bine omogenizată și congelată imediat.

Echilibrarea a fost adesea raportată ca fiind un factor de influență negativ pentru spermă, dar Jahnichen et al. (1999) nu a raportat o diminuare semnificativă a capacității de fertilizare la sperma de cegă congelată după 15 min după ce a fost echilibrată în eluent cu etilen glicol 40% în comparație cu alte probe care nu au fost echilibrate.

Procedura de congelare. Spermatozoizi sunt înghețați în paiete de 100 μ l direct pe gheață uscată sau în flacoane și tuburi (0,5-2 ml) plasate în congelatoare programabile (Jahnichen et al, 1999) sau pur și simplu în vapori de azot lichid. În acest ultim caz, rata de înghețare este controlată de înălțimea coloanei de vapori de deasupra suprafeței de azot lichid (de obicei 3-5 cm), dar aceasta depinde, de asemenea, de Dimensiunea paietelor. Adesea, se utilizează un congelator programabil cu trei trepte de temperatura: 3.5 până la 5 °C/min, de la + 2 la 14° C, 15-20 °C/min până la -70 °C sau cu scăderea bruscă a temperaturii prin transfer în azot lichid. Trukshin (2000) a raportat un efect nociv în cazul utilizării unei rate de înghețare de 10° C/min (0% fertilizare), comparativ cu 22% la 4 °C/min (Tabelul 17).

Exemple de eluenți, crioprotectanți, proceduri și performanțe (motilitatea și capacitatea de fertilizare) utilizate în protocoalele de crioconservare pentru sperma de sturion										
	Etiopio-caspian acipenser			A. ruthenicus	A. sturio	A. fulvescens		A. stellatus		A. dabryi
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8) a	(8) b	(9)
Eluent, ml										
NaCl (M) KCl (M)			2.5 N		N					0.25K
Tris-Cl	100	100-150	10	118		45.5				30/10
pH		8.0	8.5	8.0		8.0		7.98	7.98	8.0
Zaharoză				224 ml	88000		0.6m sacch	37%	37%	224 ml
Crioprotectanți% DMSO	25	10 - 15		15			10	5.7	5.7	15
Etilen glicol			12-17			14-24				
Melano					10	9.6-20				
Calcienu de cu	10	10 - 15		20						20
Spermatozoizi / eluent de volum										
	1:1		1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1
Încăleciune flacoane / paiete ml	A: 0.6		S: 0.25	V: 0.5	S: 0.5		P: 0.1	V: 0.3		V: 2.5
Conșterea °C / min	0.5	0.5-5	1-5	3.5-18.5				4	10	3-18.5
Deconșterea °C / min	40		40, 5	40	40			15	15	48
Motilitate crioșterea%		70	77-87	68			46	> 80	> 80	68
Motilitate deșterea%										
Fertilizarea%	50-60	40	10-27	15	46		14	40-50	40-50	23
Sperma crioșterea	77	77	94	58	28		86	86	86	18/26

Tabel 17. Exemple de eluenți, crioprotectanți, proceduri și performanțe (motilitate, capacitate de fertilizare) utilizate în protocoalele de crioconservare a spermei de sturion

Soluții de activare. Soluțiile specifice de activare au fost dezvoltate pentru a iniția mișcare spermatozoizilor decongețați pentru evaluarea motilității sau pentru fecundare artificială (Tabelul 2). Utilizarea acestor soluții au condus la rezultate mai bune comparativ cu activarea cu apă dulce. Valoarea presiunii osmotice ar trebui să fie mai puțin peste 100 mosM/kg apă. Din moment ce s-a demonstrat faptul că potasiul inhiba motilitatea la concentrații foarte mici de 0.1 mM la sturionul siberian *A. baerii* (Gallis et al, 1991.), 1,0 mM la *A. fulvescens* (Toth et al, 1997.) sau 0.5-1 mM în *Polyodon spathula* (Cosson și Linhart, 1996), s-a evitat includerea acestuia în soluția de activare sau eluent.

Spre deosebire de potasiu, sodiul are un efect pozitiv asupra motilității (tabelul 1) și a fost inclus în soluția de activare de numeroși cercetători. Calciul are un efect pozitiv asupra motilității spermei decongelate (Jahnichen et al., 1999). Adaosul zaharozei îmbunătățește

capacitatea de fertilizare a spermei decongelate provenind de la sturioni: la *Acipenser sturio* procentul de fertilizare a crescut la 38% față de 23% fără glucoză (Kopeika et al, 1999).

În general, numărul de spermatozoizi mobili și viteza de mișcare a spermatozoizilor au înregistrat valori mai mici în cazul eșantioanelor dezghețate decât în probele de sperma proaspătă. Cu toate acestea, în probele decongelate de spermatozoizi provenind de la *Acipenser fulvescens* s-au evidențiat spermatozoizi mobili pentru 2-3 min care au prezentat un model similar motilității spermatozoizilor din probele proaspete (tabelul 3). Billard et al. (2000) a raportat că procedura de înghețare -decongelare induce unele modificări în dinamica motilității spermatozoizilor funcție de tipul spermei dar, cu toate acestea, în sperma decongelată există traiectorii liniare și curbilinii.

Au fost raportate, de asemenea, unele prejudicii de natură mecanică cum ar fi spermatozoizi rupți sau îndoșiți. În cazul spermei de sturioni au fost raportate modificări în structura acrosomilor (reacție acrosomală). Această reacție a fost dificil de identificat fiind necesară utilizarea microscopiei cu contrast de fază, la o mărire de 1000 de ori. Prejudiciile referitoare la acrosom au fost raportate și la sperma dezghețată de *Polyodon spathula* (Mims et al., 2000) și pierderi de până la 10% din acrosom *Acipenser baerii* (Billard și Zhang, 2001).

Dzuba et al. (1999) a evidențiat aspecte importante privind calitatea spermei sturionilor ponto-caspici care a înregistrat o scădere brusca în timp, după decongelare; motilitatea spermei ar putea fi îmbunătățită prin expunerea spermei la un aport suplimentar de oxigen. Autorii au concluzionat că fecundarea ar trebui să aibă loc imediat după decongelare. La teleosteeni, nivelul de ATP din spermă a îmbunătățit criorezistența. (Labbe et al, 1998). După congelare-dezgheț la spermă de păstrăv curcubeu, *Oncorhynchus mykiss* s-a observat o diminuare considerabilă a cantității de ATP endogen (Maise, 1996).

Tabel 18. Compoziția (mM) a unor soluții pentru activarea spermei decongelate la unele specii de sturioni

Specia	NaCl	CaCl ₂	Tris-HCl	pH	Zaharoz a	Referință
Ponto-caspic sp.	3.5		12	8.1		Dzuba et al. (1999)
A. ruthenus	20	2	10	8.5		Ja hnichen et al. (1999)
A. sturio	5.3		3.1		58.3	Kopeika et al. (1999)
A. baeri			50	8		Tsvetkova et al. (1996)

O soluție o imobilizare de 400 mM zaharoză, pH-ul 8, a fost utilizată pentru predilutarea în testele de motilitate (Billard și Cosson).

Tabel 19. Motilitatea spermei proaspete și congelate de sturioni

Motilitate	A.baerii (1)		A.ruthenus (1)		A.ruthenus (2)		A.fulvescens (3)		A. fulvescens (4)		
	Proaspăt	Congelat	Proaspăt	Congelat	Proaspăt	Congelat	Proaspăt	Congelat	1993	1994-Na	1994 + Na
% Motilitate inițială	88	23	68	15	53 - 87	10 - 27	46	14	87	56	58
2 min									56	26	66
5 min	10-20							11	8,7	36	55
Inițial			81 - 95	79 - 81			106	106	129	62	120
2 min									138	56	198
5 min							71	47	74	47	94
Inițial	50	45	45								
30 sec	50										
1 min	30	10	15						40		
5 min			10						60		

(1) Tsvetkova et al. (1996); Billard et al. (1999), (2) Ja hnichen et al. (1999), (3) Ciereszko et al. (1996), (4) Toth et al. (1997) - experimente în 1993 și 1994 pe sperma proaspătă, 10mM Na + adăugată la soluția de activare în 1994.

În schimb, în cazul cercetărilor privind crioconservarea spermei de A baerii, s-a constatat o mare variabilitate privind schimbările endogene de ATP din spermă în timpul procedurii de congelare (Fig.14).

În cazul primului exemplar de sex masculin, nu a existat nici o schimbare majoră în privind cantitatea de ATP, la fiecare etapă a procedurii. O scădere accentuată în ATP a fost observată după o diluare simplă în cazul exemplarului doi de sex masculin; la exemplarele de masculi 2 și 3, conținutul de ATP a fost foarte scăzut după decongelare.

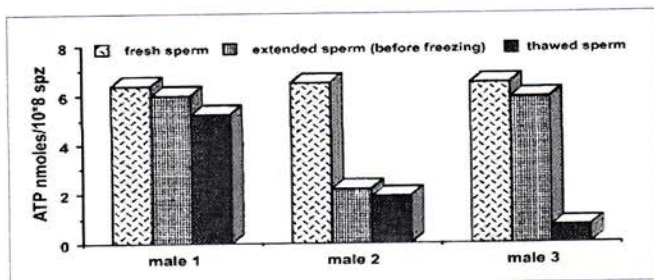


Figura 14. Trei modele diferite de modificare a conținutul de ATP din sperma în cursul procedurii de crioconservare a A. baerii (F. Fierville, 1999.); Crioconservarea în funcție de tehnica lui Horvath și Urbanyi (2000).

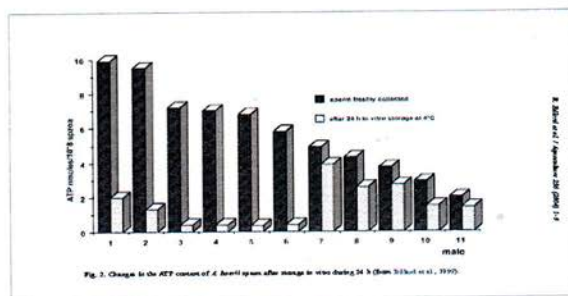


Figura 15 Modificări în conținutul ATP la sperma de A. baerii după menținere in vitro 24 h (Billard et al., 1999).

Capacitatea de fertilizare. În general, capacitatea de fertilizare a fost semnificativ mai scăzută după decongelare. Scădere în motilitate a spermei a fost legată de o oarecare pierdere a capacității de fertilizare (Tabelul 19). Dettlaff et al. (1993) a susținut că, atunci când motilitatea spermei dezghețate este mai scăzută de 20 - 40%, aproape că nu exista fertilizare în cazul unor exemplare de sturioni Ponto-Caspici. Acest lucru sugerează că alți

factori decât motilitatea au fost implicați, cum ar fi spre exemplu, modificarea acrosomilor. Cu toate acestea, *Jahnichen et al. (1999)* a raportat o descreștere semnificativă a motilității, dar nu și a capacității de a fertiliza a spermei decongelate. Acest lucru poate fi datorat utilizării de spermă în exces, care a condus la compensarea motilității reduse.

Stocarea pe termen scurt.

Mai multe studii au fost publicate pe tema conservării spermei de sturioni la temperatura camerei sau temperaturi sub 0°C. Cea mai simplă abordare a constat în stocarea materialului seminal nediluat, pe gheață. În acest caz *Detlaff et al. (1993)* au raportat menținerea unei supraviețuiri compatibile cu capacitatea de fertilizare pentru 5-6 zile. În cele mai multe cazuri, spermă a fost diluata în conservanți de compoziții diferite. Spermatozoizii proveniți de la *Scaphirhynchus platyrhynchus* și *Polyodon spathula*, au fost diluați în 100-150 glucoză mM, 20 mM Tris, soluție cu pH-ul 8.5 (*Linhart et al, 1995.*). La *Polyodon*, motilitatea spermei era încă de 97% după 16 h la 24 °C într-o soluție salină simplă cu 5 mM KCl, 20 mM Tris-HCl, pH 7. În acest caz factor critic a fost pH-ul: motilitatea a fost de numai 10-20% la un pH de 6, 8 și 9 (*Cosson și Linhart, 1996*). Un alt punct critic este reprezentat de aportul de oxigen. *DiLauro et al. (1994)* au raportat o motilitate de 99% și 40% după 5 și respectiv 17 zile, la *Acipenser oxyrinchus* în condițiile stocării spermei în saci de plastic alimentați zi de zi cu oxigen. *Conte et al. (1988)* a sugerat că sperma ar putea fi stocată la 4°C în recipiente de 10-60 ml parțial umplute cu oxigen pur care să fie înlocuit la fiecare 12 ore.

Nivelul de supraviețuire a spermei a fost, de asemenea, mult îmbunătățit prin adăugarea de antibiotice în conservanți. Spermă de *Polyodon* diluata în raport de 1:1 în 150 mM soluție de NaCl cu 5000 de unități de penicilină + 5 mg/ml streptomycină și depozitată la 1°C a avut o capacitate de fertilizare de 73% (în raport cu sperma proaspătă), după 25 de zile. După 56 zile spermatozoizi au fost mobili (*Brown și Mims, 1995*).

Soluțiile care imită structura plasmatică seminală nu au îmbunătățit în mod semnificativ supraviețuirea spermatozoizilor (*Mims, 1991*).

Experimentele privind crioconservarea spermei de nisetrul, utilizând azotul lichid, au fost realizate în anul 2007 la Stația de incubație Kavier House de la Isaccea. Principalele etape parcurse în realizarea experimentului au constat în:

- ✓ **Recoltarea spermei de la reproducătorii de sturioni.** Spermă a fost recoltată cu ajutorul unei seringi la care s-a atașat un furtun siliconat de 15-20 cm, secționat oblic la capătul liber și bine uscat pentru a evita activarea spermei. Sperma a fost colectată după anestezierea în prealabil a reproducătorului, prin introducerea în orificiul genital a furtunului și prin extragerea ușoară a lichidului seminal până la umplerea seringii. Culoarea spermei (alb lăptos) a indicat o calitate bună a spermei. Imediat după recoltare, sperma a fost introdusă cu tot cu seringă într-un vas cu fulgi de gheață.

- ✓ **Verificarea calității spermei înainte de crioconservare.** Imediat după recoltare s-a efectuat un studiu privind calitatea spermei de nisetru prin observarea la microscop a densității și motilității spermatozoidelor după activarea acestora cu apă. S-a determinat microscopic (200 X) durata de mobilitate a spermatozoidelor de la fiecare mascul, diluând sperma 1: 100 cu mediu SM (0.5 μ l sperma + 49,5 μ l mediu SM). Evaluarea s-a făcut la 10 sec. după diluare. S-a constatat că spermatozoidii sunt de foarte bună calitate atât din punct de vedere calitativ cât și cantitativ (densitate foarte bună, viguroși prezentând o mișcare brauniană intensă).
- ✓ **Pregătirea spermei pentru congelarea în azot lichid prin adăugare de eluent și crioprotectant.** După umplerea prin absorbție a paletelor s-a procedat la congelarea treptată a spermei pe suporturi de polistiren care pluteau într-un vas cu azot lichid. Această operațiune s-a făcut suficient de lent pentru a permite apei să difuzeze în spațiile extracelulare și suficient de rapid pentru a proteja componentele intracelulare de creșterea accentuată a concentrației de săruri.
- ✓ **Depozitarea paletelor în containerul cu azot lichid la -196 °C.** După umplerea paletelor și preracirea lor într-o baie improvizată dintr-o cutie de polistiren, în care s-a adăugat azot lichid, timp de 3 până la la 10' în funcție de dimensiunea paletelor, acestea s-au introdus cu multă atenție în suportii pentru paiele și apoi în containerul cu azot lichid. În prealabil, pe suport s-a realizat inscripționarea datelor experimentului – specia, data.

Pentru realizarea experimentelor s-au utilizat doua formule de crioprotectant și una pentru eluent a căror compoziție este redată în tabelul 20.

De asemenea, s-a utilizat ca mediu de înțot o soluție cu osmolaritate de minimum 100 moșmoli/kg iar pH ul de 7,3 – 7,5 cu următoarea compoziție: 20 mmol/l NaCl; 20 mmol/l TRIS-HCl -pH = 8,2; 0,1% albumina din ser bovin (BSA).

În cadrul experimentului de crioconservare au fost realizate două studii în care s-au testat diferiți crioprotectanți și un experiment de păstrare a spermei refrigerate la 4°C timp de 21 de zile. În cadrul primului experiment s-a procedat la diluarea spermei cu crioprotectantul A (1:1) (Urbányi, Horváth & Kovács, 2004) la care adăugăm 10 % metanol; în cadrul celui de al doilea experiment s-a procedat la diluarea spermei cu crioprotectantul B (1:1) (Linhardt/Rasht 2005) la care adăugăm 8 % DMSO. În ambele experimente s-a procedat la obținerea de suspensie de spermă diluată cu metanol și umplerea paletelor de 0.5 și de 5 ml. În cazul experimentului al doilea spermei i s-a lăsat un timp de echilibrare de 5 minute apoi paielele s-au suspendat 3 min (paielele de 0,5 ml) și respectiv 10 min (paielele de 5 ml) pe plutitori de polistiren la 3 cm deasupra azotului lichid turnat în cutia de polistiren.

Tabel 20. Compoziția chimică a crioprotectanților și eluentului utilizat la crioconservarea spermei de nisetru

Compoziție Chimică	Crioprotectant A. (Urbányi 2004)	Crioprotectant B (Linhart/Rasht 2005)	Eluent Park & Chapman, 2005
zaharoza,	23,4 mM	30 mM	17,2 g
KCl	0,25 mM	0,5 mM	0,2 g
Tris (pH 8,0)	30 mM	20 mM	
CH ₃ OH	10%*	8 %*	
NaCl			1 g
NaHCO ₃			0,5 g
CaCl ₂			0,05 g
MgSO ₄			0,05 g
NaH ₂ PO ₄			0,15 g
Na ₂ HPO ₄			0,15 g

- (volumul spermei + crioprotectant)

În final, paielele sigilate au fost introdus în containerul cu azot lichid. După 1 ora sperma s-a decongelat în baie de apă la 40 °C timp de 8 sec (paielele de 0,5 ml) și respectiv 30 sec. (paielele de 5 ml).

Cel de al treilea experiment a constat în verificarea eficienței eluentului Park & Chapman, determinând la intervale de 3 zile, timp de 21 de zile, mobilitatea spermatozoizilor dintr-o probă de spermă diluată și divizată în 21 de tuburi Eppendorf de 2,5 ml, păstrate la 4°C. În toate experimentele mobilitatea a fost verificată la microscop (durata mișcărilor de înaintare a spermatozoizilor) după amestecarea ei cu apă dulce (din Stație).

Paielele utilizate au fost de tip COSSOU (France – 2000 buc) (Foto 38) având dimensiunea 110 mm și un volum util de cca 0,25 ml. În cazul experimentului unu s-a utilizat metoda descrisă de Urbany (2004), în care, pentru fecundarea a 100 g de icre a fost nevoie de 9 paiele, având un volum total de cca 2,2 ml. În cadrul experimentului doi a fost nevoie de doar 8 paiele cu un volum total de cca 2,16 ml (Linhart 2005).



Foto 38. Mulgerea unui mascul de nisetru (stanga) și de pastrugă (dreapta)

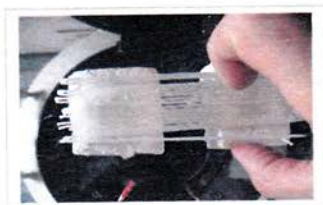


Foto 39. Operația de pre-racire a spermei diluate (cu adaus de crio-protector) și paiele cu spermă în baia de pre-racire



Foto 40. Detaliu cu paiele cu spermă de nisetru imediat după scoaterea din baia de pre-răcire



Foto 41. Mulgerea icrelor de la păstrugă

Foto 41. Punerea paietelor în containerul de lucru / păstrare în azot lichid

Tabel 21. Tablou sintetic privind timpii de mobilitate a spermei nediluate prelevate de la cei trei masculi de nisetru utilizați în cadrul experimentul de crioconservare

Specia/Cod PIT	Volum sperma folosită [ml]	Nr. vasului de depozitare în container	Ora	Timp [min] inițial de mobilitate a spermei nediluate
P/0599	1	A 9 1	20:00	3 -4
P/4140	1	B 8 2	20:15	4 - 5
C/0132	1	A 9 3	02:00	2 -3

C – cega; P – păstruga; N -nisetru; Rata de fecundare cu spermă

Controlul mobilității spermei crioconservate. Mobilitatea spermei provenită de la masculul marcat cu marca tip PIT nr 4140, a fost verificată după 2 ore de la crioconservare. În prealabil s-a decongelat paieta timp de 5 sec la 40°C și s-a amestecat pe o lamă 0,5 μl sperma crioconservată + 50 μl mediu de înnot (Linhart 2002), după care s-a examinat preparatul sub microscop, utilizând un obiectiv de 200x. Mobilitatea observată a fost de 5 % din numărul total de spermatozoizi, timp de cca 1 min.

Controlului fecundării cu spermă crioconservată: Rata de fecundare obținută a fost de aproximativ 35– 40%. Paietele cu spermă crioconservată de aproape 2 ore au fost cufundate timp de 5 sec în baia de apă la 40 °C și apoi conținutul lor a fost diluat cu apă și utilizat rapid la fecundarea icrelor. Rata de fecundare cu spermă crioconservată obținută de noi la icrele de păstruga, de cel puțin 30%, s-a menținut și confirmat prin eclozarea embrionilor după cca 115 ore de la incubare la o temperatură a apei de 16,6 – 18 °C. Embrionii erau viabili și au fost ulterior incluși în lotul mai mare de larve care aveau aceiași părinți. Rata de fecundare observată de noi este confirmată de literatura de specialitate (Billard, 2004). Având în vedere rezultatele obținute, la stația de reproducere Isaccea s-a creat o bancă de spermă crioconservată în scopul utilizării acesteia la Campania de reproducere din anul următor (Tabelul 22).

Tabel 22. Tablou sintetic privind timpii de mobilitate a spermei prelevate de la cei trei masculii de nisetru și păstruga în vederea crioconservării și stocării ei pe termen lung

Specia/Co d PIT	Volum sperma conservată [ml]	Recipient din container	Data/oră	Procent inițial și timpii de mobilitate (min) a spermei
P/0599	1	A 9	5.06.07/20:0 0	100% >5 min
P/4140	1	B 8	2 5.06.07/20:15	100% >5 min
C/0132	1	A 7	6.05.07/02:0 0	100% >3 min
N/PF 14 7	5	B 10	8.05.2007/ 18:45	100% >5 min
C – cegă;	N -nisetru ;	P – păstruga;		

Conservarea spermei de sturioni la 4°C. Pentru acest experiment s-a folosit soluția de diluare elaborată de Park & Chapman (2005): S-a amestecat câte 2 ml de spermă de la masculii de păstruga cu marca PIT nr. 0599 și nisetru marcat cu marca PIT nr. 4140, cu câte 6 ml de diluant Park & Chapman (2005). Fiecare lot a fost apoi împărțit în câte 8 tuburi Eppendorf de 1 ml și depozitate la frigider.

Mobilitatea spermei astfel conservate, după 2 zile, a fost de 90 sec și un procent de (85 – 95 %). Probele au fost păstrate în frigider la temperatura de 4°C și reexaminat în ziua a cincea când mobilitatea a scăzut până la un procent de 25% pentru 30 –40 secunde..

Concluzii Crioconservarea spermatozoizilor de sturioni este influențată de numeroși factori printre care se numără: compoziția conservanților ale căror efecte nocive sunt reflectate în calitatea spermei crioconservate, motilitatea spermatozoizilor din sperma nediluata (calitatea materialului seminal supus crioconservării), structura acrosomilor (acrosomul sturionilor este predispus la denaturare).

În cazul de față, capacitatea de fertilizare a spermei congelate/decongelate a fost redusă, dar a rămas suficientă pentru a permite aplicarea practică pentru banca de spermă, mai ales având în vedere conservarea speciilor. Mai multe serii de cercetări vor fi necesare cu privire la modificările în structură și funcția acrosomilor și în efectul de crioconservare asupra ADN-ului embrionului și a mortalităților. Adăugarea oxigenului sau aerului în cazul stocării pe termen scurt la 4 °C ar putea îmbunătăți calitatea spermei conservate astfel sau ar putea contribui la creșterea timpului de stocare adesea studiate dar care lipsesc din publicații.

3.3. Rezultate și discuții privind alevinajul la nisetru

Alevinajul reprezintă o etapă foarte sensibilă în dezvoltarea sturionilor. După eclozare și utilizarea resurselor viteline, supraviețuirea depinde nu numai de sistemul de creștere și de gestionarea acestuia, ci și de aportul nutritiv adus de alimentația exogenă. Altfel spus, aspectele nutriționale prezintă o importanță deosebită în cadrul acestei etape. Satisfacerea cerințelor nutriționale presupune folosirea unui tip de hrană adecvată speciei de cultură în contextul practicării unui management al hrănirii (intensitatea și frecvența hrănirii) riguros stabilit în funcție de talia materialului biologic și de condițiile de mediu.

Dezvoltarea larvară începe odată cu eliberarea embrionului din învelișul icrei. În ontogeneza sturionilor, eclozarea se produce la un stadiu timpuriu de dezvoltare și asemănător pentru toate speciile. Corpul este nepigmentat, transparent, cenușiu și dispus pe un sac vitelin de dimensiuni mari.

La nivelul capului se disting orificiile nazale și ochii, în care se remarcă cristalinul și o mică aglomerare de pigment în porțiunea superioară centrală. Pe laturile capului se observă de asemenea, capsulele auditive, iar în porțiunea ventrală glanda de eclozare și o mică adâncitură (unde se va dezvolta mai târziu cavitatea bucală). În zona branhială se conturează primordiile arcurilor branhiale.

În zona trunchiului se conturează primordiile înotătoarelor pectorale, sub forma unor mici pliuri transparente, deasupra sacului vitelin. În intestinul posterior, cu care se continuă sacul vitelin, se observă începutul ondulării valvulei spirale.

În zona dorsală a corpului prin transparență, se văd segmentele musculare. Coada, în acest stadiu, este homocercă, înconjurată de o înotătoare membranoasă, unică, care se continuă atât în zona dorsală, cât și în cea ventrală a corpului.

Respirația este realizată de rețeaua bogată de vase sanguine de la suprafața sacului vitelin și a segmentelor musculare.

Eclozarea se face treptat; dacă este extinsă în timp, embrionii rămași încă în membrană încep să crească și să se dezvolte, astfel că odată eclozați nu mai seamănă cu cei eliberați din membrană cu câteva ore înainte. Acesta este încă un factor care explică în parte variația dimensiunilor și aspectul larvelor la eclozare. Diferența în lungime a larvelor eclozate din icrele provenite de la aceeași femelă de obicei nu depășește 1 mm.

Imediat după eclozare larvele se mențin în masa apei pentru perioade foarte scurte de timp. Mișcările corpului se întrerup (din pricina musculaturii care nu este suficient de dezvoltată pentru a executa contracții prelungite și a susține greutatea sacului vitelin) și larva coboară pasiv spre fundul apei. În bazine, în zonele de curent slab al apei, larvele se ridică aproape vertical spre suprafață, apoi se îndreaptă și cad spre fund, cu capul în jos. După o pauză, încep din nou să înoate și se ridică în același mod spre suprafață. Dacă stratul de

apă nu are un nivel înalt, larvele ating suprafața și, înainte de a trece în starea pasivă, petrec o porțiune de timp pe orizontală.

În acest stadiu, larvele se răspândesc uniform atât în masa apei cât și pe fundul bazinului și nu prezintă nici un fel de reacție la lumină sau la curentul apei. Mișcările în salt, cu mici deosebiri, sunt caracteristice nisetrilor în primele zile de dezvoltare postembrionară și prezintă importanță deosebită pentru asigurarea schimbului de gaze care se efectuează prin vasele sanguine dispuse la suprafața corpului și mai ales la suprafața sacului vitelin.

Studii amănunțite efectuate asupra larvelor de sturioni au evidențiat o serie de caracteristici ale procesului de dezvoltare care au putut fi sintetizate pe anumite etape (Iakovleva, 1952; Căloianu-lordăchel 1959, 1961, 1965; Davydova, 1970, etc).

Prima etapă (care durează circa 3 zile) începe cu eclozarea și continuă până la trecerea larvei la stadiul în care respirația se face prin branhiile externe. Această etapă se caracterizează prin: slaba diferențiere a tuturor sistemelor și organelor și în special a tubului digestiv; hrănirea endogenă cu vitelus; slaba intensitate a folosirii oxigenului; rezistența mare în condițiile nefavorabile de mediu (aceasta face posibilă transportarea fără mari pierderi).

În primele trei zile de la eclozare, pe măsura evoluării procesului de morfogeneză, ridicările la suprafață devin mai dese. Interesant apare faptul că larvele se ridică tot în poziție înclinată și coboară în același fel, dar de data aceasta cu capul în sus. La început sunt indiferente față de excitantul luminos, apoi treptat devin iubitoare de lumină.

Odată cu creșterea, se continuă și procesul de diferențiere și dezvoltare a principalelor sisteme și organe, astfel că la larva în vârstă de 3 zile se pot observa următoarele caracteristici: capul este separat de sacul vitelin; ochii sunt dezvoltati și pigmentați; primordiile mustăților se observă cu ușurință; operculele sunt relativ mari, iar pe lângă branhiile dispuse pe suprafața internă a operculului se observă și arcuri branhiale cu branhiile externe dezvoltate; respirația branhială pasivă devine activă; la suprafața corpului apar celule pigmentare; tubul digestiv este diferențiat în porțiunile sale principale, iar în mucoasa cavității bucale începe procesul de formare a dinților.

După a treia zi de la eclozare, larvele coboară și se mențin în straturile de apă de la fundul bazinelor.

Cea de-a doua etapă (6-10 zile) reprezintă etapa de trecere de la hrănirea endogenă la cea exogenă și se caracterizează prin: formarea primordiiilor înnotătoarei dorsale și anale; formarea primordiiilor spinilor dorsali; dezvoltarea rețelei de vase sanguine în franjuri branhiilor; respirația prin branhiile externe, fapt ce determină creșterea cantității de oxigen necesară; dezvoltarea ochilor; activitatea intensă a tiroidei; continuarea dezvoltării tubului digestiv.

În această etapă de trecere, larvele de sturioni sunt mai sensibile datorită transformărilor morfo-fiziologice profunde din organe și țesuturi, intensificarea activității glandei tiroide și scăderea rezistenței la deficitul de oxigen. În acțiunea de creștere artificială a sturionilor este, deci, absolut necesar să se creeze condiții care să favorizeze respirația și trecerea la hrănirea activă.

Etapa a treia cuprinde 5-7 zile și începe cu momentul în care alevinii folosesc hrana exogenă paralel cu continuarea consumării rezervelor interne. Toate porțiunile tubului digestiv, cu excepția stomacului, sunt formate. Începe activitatea intensă a glandelor digestive. În epiteliul cutat ce căptușește cavitatea bucală, numeroase celule elimină activ mucus. Mugurii gustativi ating un stadiu înalt de dezvoltare. În cavitatea bucală se evidențiază dinții complet formați.

În stomac începe procesul de digestie cavitara a vitelusului și totodată, a hranei ingerate. Desăvârșirea procesului de formare a glandelor stomacale se realizează spre sfârșitul etapei de hrănire combinată. Structura puțin evoluată a stomacului în perioada trecerii la hrănirea activă constituie momentul critic în dezvoltarea nisetrului și explică procentul ridicat al mortalității lor în această etapă.

Alevinii încetează de a mai forma aglomerări în porțiunile întunecate, răspândindu-se uniform în tot bazinul și menținându-se în stratul de fund al bazinului. Căutând hrană, ele se deplasează încet și adeseori se opresc. În bazine, unde li se administrează numai forme planctonice mici, se ridică imediat în masa apei în urmărirea hranei, iar în cazul înfometării alunecă cu abdomenul pe fundul bazinului, înoată rapid în direcții diferite, deseori ajungând la suprafața apei. Alevinii de nisetru se hrănesc în această fază pe o perioadă de cel puțin opt zile cu proteină vie, oligocheți - *Enchytraeus* sp., zooplancton, forme mici de *Daphnia* sp., *Moina* sp. sau *Artemia* sp. *Daphnia*, rotiferele, copeopodele și *Artemia* sunt cele mai des cultivate ca hrană vie, separat, uneori împreună, însă s-au mai folosit și alte specii. În unele cazuri, când nici una din variantele standard nu este satisfăcătoare, trebuie încercate și alte variante.

Etapa a patra, care se continuă până în conturarea caracterelor externe asemănătoare adulților perioada de pui, cuprinde următoarele 20-25 de zile (începând cu a 12-a până la a 15-a zi după eclozare). Caracteristicile acestei etape sunt: retracția dinților larvari, în legătură cu formarea gurii protractile; cresc cerințele organismului față de oxigen și se continuă procesele de diferențiere, care duc la o dezvoltare rapidă a întregului organism și deci a structurii tubului digestiv. În felul acesta, larvele sunt capabile să consume o hrană mult mai variată și devin polifage.

În sturionicultură, creșterea larvară și alevinajul reprezintă cele mai sensibile secvențe tehnologice, rata de supraviețuire maximă și starea fiziologică optimă fiind atinse prin

accesarea unui program nutrițional complet care să acopere cerințele fiziologice a organismului pentru fiecare etapă de dezvoltare.

În literatura de specialitate, datele cu privire la creșterea nisetrului în perioada de alevinaj sunt relativ puține și neconcludente în ceea ce privește performanța tehnologică atinsă în diferite contexte de management al hrănirii.

În sprijinul celor afirmate mai sus, la stația sturionicolă Isaccea, au fost realizate două experimente de creștere a speciei *Acipenser gueldenstaedti* în perioada larvară și postlarvară.

3.3.1. Experimentări privind influența regimului de hrană asupra creșterii și dezvoltării larvelor și alevinilor de nisetru

Pentru **primul experiment** s-au utilizat larve de nisetru în vârstă de 6 zile - stadiul 44. În această fază de dezvoltare, larvele se caracterizează printr-o pigmentare intensă și prin apariția, pe partea dorsală, a scuturilor osoase. Capul se mărește datorită lungimii rostrului. Mustățile nu ajung până la gură. Radiile înotătoarelor sunt vizibile, se mărește mult înotătoarea dorsală și apar aglomerări pigmentare în zona viitoarelor radii. Vârful cozii se subțiază și se coboară. Pe ambele rânduri de arcuri branhiiale apar lamelele secundare. Filamentele branhiilor se întind în afara operculului. La această vârstă lungimea larvelor de nisetru este de 18 mm și are loc trecerea la hrana activă. Greutatea larvelor este cuprinsă între 40,2 – 48,6 mg. Larvele sunt intens pigmentate, rostrul s-a mărit. Înotătoarele anală și dorsală încă nu sunt întrerupte de înotătoarea caudală. Ochiul este total pigmentat, larva vede și începe să funcționeze musculatura oculară. Cea mai mare parte a sacului vitelin rămâne în viitoarea regiune stomacală.

La peste 210 ore, stadiul 45, substanța vitelină se eliminată treptat. În acest moment larva trece la hrana exogenă. Începe activitatea intensă a glandelor digestive. Dinții sunt complet formați. Larvele stau grupate pe fundul incintei, formând așa numitul roi. În acest stadiu începe eliminarea dopului melanic. Comportamentul larvelor de nisetru este deosebit prin faptul că, odată ce elimină dopul melanic, larvele se desprind din formație și încep să caute hrană pe fundul incintei.

La aproximativ 224 de ore de la eclozare, la temperatura apei de 21°C sacul vitelin mai iese puțin din corp. Radiile înotătoarelor anale sunt evidente. Capul are multe excrescențe comoase. Filamentele branhiilor încă se extind dincolo de opercul. În stomac începe procesul de digestie a vitelusului și totodată a hranei. Larvele încep să se orienteze spre suprafața bazinului și tind să evite curentul de apă.



Foto 42. Larve de nisetru în stadiul de roi

Principalul obiectiv al studiului de față a fost reprezentat de evaluarea caracterelor morfologice și a performanțelor tehnologice a larvelor de nisetru în contextul testării diferitelor strategii nutriționale. Studiul a urmărit, de asemenea, elaborarea unei scheme nutriționale adecvate care să corespundă exigențelor tehnologice, prin îmbunătățirea indicatorilor de creștere și atingerea unei stări fiziologice corespunzătoare.

Pentru prezentul experiment s-au utilizat un număr de 12 mii exemplare de larve de nisetru (2000 exemplare/bazin) care au fost distribuite randomizat în 6 unități de creștere de fibră de sticlă, cu un volum de 400 l, astfel încât să se creeze 3 variante experimentale, pentru fiecare variantă experimentală existând o variantă replică.

Prima variantă experimentală a fost reprezentată de două loturi de larve de nisetru cărora li s-a administrat în exclusivitate hrană naturală. Această variantă experimentală, notată cu DN (Dieta Naturală) s-a caracterizat prin faptul că, larvele din cadrul loturilor au fost hrănite cu hrană naturală reprezentată de 75% Tubifex și de 25% zooplancton de apă dulce. Lotul de larve din cadrul celei de-a două variante experimentale, notată cu DA (Dieta Artificială), au fost alimentate cu dieta artificială iar ultimul lot de larve aparținând celei de-a treia variante experimentale, notată cu DM (Dieta Mixtă) a fost furajat cu o dietă mixtă. Pentru dieta naturală intensitatea hrănirii a fost de aproximativ 100 BW%/zi. Pentru dieta artificială a fost utilizat un furaj comercial cu 58% proteine (compoziția biochimică este redată în tabelul 23) în proporție de 20%/BW/zi în primele 15 zile, urmată de o reducere treptată la 4%/BW/zi în ultimele 6 zile a experimentului. Reducerea a constat în raportul redus cu 2%/BW la fiecare 2 zile experimentale. Pentru dieta mixtă (MD) s-a utilizat următoarea schemă:

$$\Sigma (X_d) = F_{nz} + F_{nb} + F_{nb} \%$$

Unde, X_d - perioada de hrănire (d- zile); F_{nz} hrană naturală zooplanctonică; F_{nb} - hrană naturală bentonică; F_{nb} - furaj.

Pentru fiecare etapă de creștere, dieta mixtă a fost alcătuită din procente diferite de hrană naturală, respectiv furaj.

$$X_3 \rightarrow F_{nz} - 5\%; F_{nb} - 85\%; F_{na} - 10\%$$

$$X_5 \rightarrow F_{nz} - 5\%; F_{nb} - 60\%; F_{na} - 35\%$$

$$X_8 \rightarrow F_{nz} - 5\%; F_{nb} - 45\%; F_{na} - 30\%$$

$$X_{20} \rightarrow F_{nz} - 5\%; F_{nb} - 10\%; F_{na} - 85\%$$

Frecvența hrănirii a fost stabilită similar pentru cele trei variante experimentale, administrându-se un număr de șase mese în 24 de ore.

Tabelul 23. Compoziția biochimică a furajului Nutra 4 (0,3 mm)

Caracteristici	NUTRA 4
Proteine -%	58
Lipide-%	12
Fibră brută %	0.9
Cenușă %	9,8
Fosfor %- UI	1,5
Vitamina A -UI	14000
Vitamina D - mg	2200
Vitamina E -mg	240
Vitamina C -mg	1000
Cu -mg	8,5

Înainte de populare incintele au fost riguros igienizate. Sistemul de creștere utilizat a fost cel intensiv, deschis. Înălțimea coloanei de apă în incintele de creștere a fost pentru început, în momentul populării de 15-20 cm, urmând că ulterior aceasta să fie ridicat la aproape 40 cm.

Densitatea de populare pentru această etapă de creștere a fost de 5 larve la litru de apă iar debitul de primenire al incintei a fost reglat la 3- 5 l/minut.

Rezultatele cercetării sunt extrem de importante pentru tehnologiile acvacole, în contextul în care se dorește optimizarea managementul tehnologic și maximizarea profitului. Pentru atingerea acestui obiectiv s-au monitorizat și cuantificat: principalii parametri hidrochimici ai apei, care ar putea influența performanțele de creștere a peștilor, au fost monitorizați și menținuți în limite optime și la aceleași valori pentru variantele experimentale studiate; principalii parametri tehnologici de apreciere ai performanței de creștere la pești; influența dietei asupra factorului de condiție și mortalității.

Dinamica parametrilor de calitate a apei

În general, valorile parametrilor ce reflectă calitatea mediului de cultură s-au menținut în limitele normale, cu variații sporadice în cazul cantității de oxigen dizolvat și a substanței organice, cazuri ce au favorizat apariția fenomenelor de hipoxie și uneori, multiplicarea populațiilor bacteriene.

În ceea ce privește variațiile cantitative și calitative ale microflorei s-au observat că acestea au fost generate în principal de variațiile termice ale apei și de consumul specific de hrană. Scăderea treptată a temperaturii apei a avut drept consecință imediată o tendință spre echilibrare a raportului dintre microflora Gram-negativă și cea Gram-pozitivă, secundată de instalarea unui dismicrobism intestinal la majoritatea exemplarelor studiate.

Pentru controlul acestor parametri calitativi ai apei s-a folosit un sistem de condiționare, sterilizare și dezinfectare al apei.

În concluzie, principalii factori fizico-chimici ai mediului de acvacultură au fost monitorizați în permanență pentru a asigura condiții corespunzătoare de creștere a lotului supus experimentului.

Aprecierea condițiilor de creștere s-a realizat permanent prin prelevarea de probe de apă și cuantificarea diferiților parametri fizico-chimici prin examene de laborator. În acest sens, s-au urmărit variațiile temperaturii, ale pH-ului, cantitatea de oxigen dizolvat, consumul biologic de oxigen, cantitatea de substanță organică și duritatea apei.



Foto 43. Larve de nisetru în bazine de alevinaj

Plaja de temperatură a apei în perioada monitorizată a oscilat în intervalul de la 18-21°C (Fig.16).



Figura 16. Dinamica variației temperaturii pe perioada experimentală

Valoarea concentrației oxigenului dizolvat trebuie menținută la concentrații de peste 5 mg/l. Pentru a evita scăderea oxigenului dizolvat sub 3 mg/l și/sau expunerea îndelungată la concentrații mai mici de 5 mg/l care pot conduce la asfixierea peștilor, apa tehnologică a fost suplimentată cu O₂ prin aerare sau introducerea de oxigen tehnic.

Pentru a putea realiza o apreciere și interpretare obiectivă a parametrilor fizico-chimici, aceștia au fost monitorizați în dinamica sezonieră, din martie și până în octombrie (Tabelul 24). Valorile pH-ului s-au stabilit prin apreciere cu ajutorul benzilor de hârtie îmbibate în soluție de indicator universal (în condiții de teren) și prin metoda colorimetrică (în laborator).

Tabel 24. Valorile medii ale temperaturii, pH-ului apei și oxigenului dizolvat în sistemul de creștere intensiv de la Kaviar House Isaccea

Parametrii	Martie	Aprilie	Mai	Iun	Iulie	Aug	Sep	Oct
T (°C)	9	12	14	21,5	24	23	19,5	16
pH	7,3	7,4	7,6	7,8	7,3	7,2	7,3	7,5
O ₂ (mg/l)	8,3	7,0	6,8	6,2	6	5,9	6,7	7,2

Analiza indicatorilor de performanță tehnologică

Obiectivul central al experimentului de față a fost reprezentat de evaluarea impactului pe care tipul de hrană l-ar putea avea asupra performanțelor de creștere și supraviețuirii la alevinii de nisetru în condițiile menținerii parametrilor mediali în limite optime, impuse de

cerințele ecotehnologice ale speciei luate în studiu. Din analiza indicatorilor de performanță tehnologică realizați (Tabelul 25) se observă diferențieri între variantele de hrănire, reflectate atât în eficiența valorificării nutrienților cât și în procentele de supraviețuire realizate.

Tabel 25. Tablou sintetic privind indicatorii de performanță tehnologică la alevinii de nisetru hrăniți exclusiv natural, mixt și exclusiv artificial

Performanța creșterii peștilor	DN	DA	DM
Furaj total/acvariu (g)	35080	5471	28150
Biomasa totală inițială (g)	160.00	160.00	160.00
Număr exemplare inițial	4000.00	4000.00	4000.00
Număr exemplare final	2620	2000	2400
Greutatea inițială medie (mg)	40	40	40
Biomasa totală finală (g)	3668	2560	3312
Greutatea finală medie (mg)	1400.00	1280.00	1380.00
Spor individual de creștere (mg)	1360.00	1240.00	1340.00
Spor total de creștere (g)	3508.00	2400.00	3152.00
Rata relativă de hrănire (g/kg/zi)	4.12	1.99	9.92
Rată specifică de creștere SGR (% BW/zi)	9.88	9.63	9.84
Rata zilnică de creștere - (mg/zi)	37.778	34.444	37.222
FCR (g/g)	10.00	2.28	8.93
Supraviețuire (%)	65.50	50.00	60.00

Greutatea inițială medie a larvelor cu care au fost populate cele șase unități de creștere a fost de 40mg/exemplar.

Așa cum se poate observa în figură 18 greutatea individuală medie în următoarele etape experimentale a înregistrat diferențe mici între variantele luate în comparație, la finalul experimentului alevinii din prima variantă (ND) înregistrând o greutate individuală medie de 1400 mg, comparativ cu loturile furajate exclusiv cu furaj (AD) și cele cărora li s-a administrat atât furaj cât și hrană naturală (MD) unde greutatea individuale medii au fost sensibil mai mici, anume de 1280 mg/exemplar, respectiv 1380 mg/exemplar.

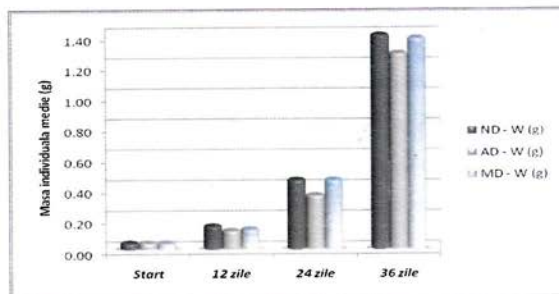


Figura 17. Variația masei individuale medii a larvelor de nisetru hrănite exclusiv cu hrană naturală (DN), exclusiv cu hrană artificială (DA) sau mixt (DM) pe parcursul experimentului

De asemenea, biomasa totală finală cuantificată pentru varianta experimentală unde s-a administrat hrană naturală a înregistrat cea mai mare valoare și anume 3668 g comparativ cu variantele experimentale unde s-a administrat dietă mixtă și dietă artificială unde biomasa finală a fost de 3312 g, respectiv 2560 g (Fig. 18).

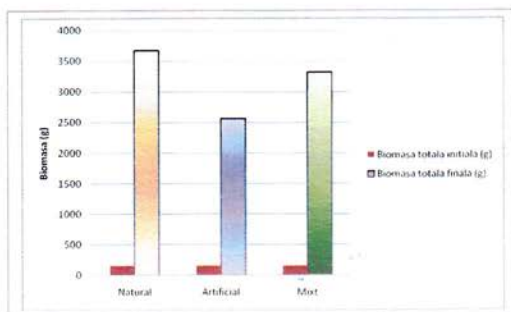


Figura 18. Biomasa inițială și finală a alevinilor de nisetru hrăniți exclusiv cu hrană naturală (ND), exclusiv cu hrană artificială (AD) sau mixt (MD) pe parcursul experimentului

Diferențele evidente înregistrate între cele trei variante experimentale cu privire la biomasa finală sunt datorate, în principal diferențelor semnificative ($p < 0.05$) între mediile valorilor mortalităților înregistrate pe durata experimentului în toate cele 6 unități de creștere. Așa cum se poate vedea în figură 19, acumularea mai mare de biomasă în prima variantă experimentală (ND) nu s-a făcut prin cumularea sporului individual ce creștere, care a înregistrat diferențe nesemnificative între variantele experimentale testate ($p > 0.05$), ci prin prezența unui număr considerabil mai mare de exemplare regăsite la finalul studiului în această variantă (cu 15.5% mai mult față de AD și 5.5% mai mare comparativ cu MD).

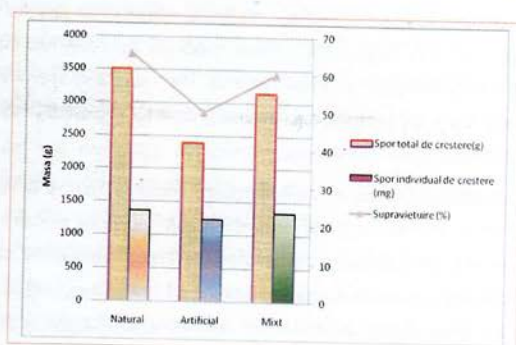


Figura 19. Sporul individual de creștere, sporul total de creștere și procentul de supraviețuire înregistrat la finalul experimentului

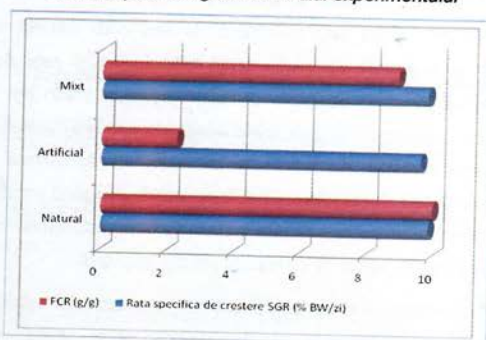


Figura 20. Factorul de conversie al hranei (FCR) și Rata specifică de creștere (SGR) la alevinii de nisetru hrăniți exclusiv cu hrană naturală (ND), exclusiv cu hrană artificială (AD) sau mixt (MD) pe parcursul experimentului

În ceea ce privește eficiența hrănirii se poate considera că s-a obținut, în toate variantele experimentale, un coeficient de conversie bun pentru această etapă de dezvoltare (2.28 pentru DA, 8.93 pentru DM și 10 pentru DN) și de asemenea o rată specifică de creștere comparabilă (9.63%BW/zi pentru DA, 9.84 %BW/zi pentru DM și 9.88%BW/zi pentru DN).

Ca o regulă generală, indiferent de tipul de hrană administrat, sporul de creștere a fost mai lent în primele zile de creștere comparativ cu a doua și ultima parte a experimentului.

Referitor la eficiența reținerii nutrienților din hrana administrată larvelor de *Acipenser guldenstaedti* se obține un spor de proteine și lipide corporale, care este mai mare în cazul în care acestea sunt hrănite exclusiv cu hrană naturală, dar raportând sporul de creștere în greutate la cantitatea totală de proteină administrată, raportul eficienței proteinei este mai mare în cazul folosirii furajelor combinate.

În baza corelației indicatorilor ce caracterizează eficiența nutriției larvelor de nisetru precum și eficiența utilizării proteinei și a lipidelor din hrană, reiese că larvele hrănite cu furaj hidrolizat asimilează mai bine proteinele și lipidele din hrană comparativ cu exemplarele variantelor în care conduita de hrană se bazează pe hrană naturală și furaj în combinație cu hrană naturală. În concluzie furajul hidrolizat are o compoziție biochimică echilibrată, fiind ușor digerabil și asimilabil de larvele de nisetru.

3.3.2. Experimentări privind dezvoltarea unui program nutrițional adecvat creșterii și dezvoltării larvelor și alevinilor de nisetru

Momentul începerii hrănirii este considerat ca fiind critic datorită efectelor induse ulterior și reflectate în indicatorii de performanță tehnologică și rata de supraviețuire. Perioadele scurte de inaniție după absorbția completă a sacului vitelin pot fi secundate de comportament și dezvoltare morfologică anormale, degenerarea tractului digestiv și a musculaturii, reducerea activității de hrănire și eficienței utilizării hranei. În consecință, aprecierea momentului exact de trecere la hrănirea activă, exogenă prezintă o deosebită importanță, în special în cadrul creșterii dirijate unde toate aspectele legate de tipul de hrană, cantitatea și calitatea acesteia, intensitatea hrănirii pot fi manipulate.

La nivelul comunității științifice există o mare varietate de opinii în legătură cu momentul inițial al hrănirii (Heming et al., 1982; Piper et al., 1983). În general este recomandat ca hrana să fie oferită larvelor atunci când dobândesc capacitatea de a se hanii moment care coincide cu înotul activ, vertical în masa apei (Twongo and MacCrimmon, 1976; Piper et al., 1983). Pentru majoritatea speciilor înotul vertical are loc în momentul în care rezervele viteline sunt absorbite în proporție suficientă cât să permită înotul activ.

S-a constatat însă, că administrarea furajelor în această etapă larvelor de păstrăv nu este benefică ci dimpotrivă (Twongo and MacCrimmon, 1976; Heming et al., 1982; Koss and Bromage, 1990). Mai mult decât atât, s-a raportat faptul că, la păstrăvul fântânel, pot surveni mortalități notabile atunci când acesta este hrănit timpuriu comparativ cu cel care a fost menținut timp de 5 zile după debutul înotului activ în lipsa hranei (Piper et al., 1983; Koss and Bromage, 1990).

În general, majoritatea acvicultorilor preferă să distribuie hrană, atunci când aproximativ 50% din larve înnoată activ, deoarece administrarea târzie a hranei (mult după absorbția rezervelor endogene) poate avea consecințe nedorite precum refuzul hranei pentru

o perioadă mai lungă sau pentru totdeauna (Piper et al., 1983; Kamler, 1992). Această remarcă ilustrează conceptul punctului fără întoarcere („the point of no return”), propus de Blaxter și Hempel (1963) care definește momentul critic în care larvele pierd abilitatea de a se hrăni și devin mai puțin active.

Studiul de față are drept obiectiv implementarea observațiilor anterioare privind nutriția și alimentația larvelor și alevinilor de sturioni în cadrul unui program nutrițional complet care are drept scop diminuarea pierderilor numerice pe perioada alevinajului și obținerea de pui de nisetru viabili, pregătiți pentru lansarea lor în producție.

În acest scop s-a elaborat un program de hrănire complet (Tabelul 26) care ține cont de particularitățile fiziologice ale larvelor de nisetru pentru care, este de preferat, ca trecerea la alimentația artificială se se facă treptat astfel încât pierderile înregistrate să fie sub pragul de 5%.

Tabelul 26. Program de hrănire a larvelor de nisetru de la 7 la 46 zile

Perioada (zile)	Rația zilnică de hrană administrată (%BW/zil ± STD)			Ponderea diferitelor tipuri de hrană administrată (%)		
	Zooplanton	Tubifex	Furaj	Zooplanton	Tubifex	Furaj
P1 - 5 zile	37,33±3,21			100%		
P2 - 3 zile	13,56±2,39	54,26±9,56		20%	80%	
P3 -12 zile		49,05±4,07			100%	
P4 - 3 zile		53,97±4,07	1,69±0,08		97%	3%
P5 - 3 zile		36,41±4,20	2,60±0,30		93%	7%
P6 - 3 zile		22,8±2,09	3,81±0,34		86%	14%
P7 - 3 zile		14,9±1,25	5,97±0,50		71%	29%
P8 - 3 zile		8,81±0,87	6,61±1,80		57%	43%
P9 - 3 zile		4,90±0,40	6,54±0,54		43%	57%
P10 - 2 zile			6,70±0,54			100%

Furajul utilizat în experimentul de față și a cărui compoziție biochimică este detaliată în tabelul 27, este un furaj granulat înalt proteic ce conține un stimulent pentru imunitate (β -glucans) ce contribuie la îmbunătățirea rezistenței naturale la boli.

Tablel 27. Compoziția biochimică a furajului SteCo CRUMBLE HE (300-500 μ m)

Compoziție biochimică		UM
Proteină	58	%
Grăsimi	13	%
Celuloză brută	0.5	%
Cenușă	11.3	%
Fosfor	1.8	%
Vitamine		
Vitamina A	29.500	IU/kg
Vitamina D3	3.000	IU/kg
Vitamina E	260	mg/kg
Vitamina C (stabilă)	390	mg/kg
Energie (/kg)		
Brută	20.6	MJ
Digestibilă	19.0	MJ
Metabolizantă	16.3	MJ

Pe parcursul experimentului performanța de creștere a alevinilor a fost monitorizată și înregistrată cu ajutorul indicatorilor tehnologici descriși în detaliu la capitolul „Materiale și metode”. Astfel, pentru fiecare etapă experimentală, ce a coincis cu trecerea la un alt program de alimentație, performanța tehnologică a fost cuantificată, principalii indicatori descriptivi fiind sintetizați în tabelul 28. Analiza datelor experimentale evidențiază un spor individual de creștere de 1028 mg la finalul experimentului, valorile înregistrate pentru cele 10 perioade de hrănire oscilând între 8,27 mg în prima etapă de hrănire, etapă exclusiv zooplantonică, și 138,53 mg în cea de-a noua etapă de hrănire, etapă în care aportul de hrană naturală bentonică și de furaje a fost aproximativ egal.

Interesant de observat este faptul că, odată cu trecerea la hrana exclusiv bentonică s-a înregistrat un vârf de creștere, în etapa P3 sporul de creștere fiind de 109,76 mg/individ (Figura 21). De asemenea, se remarcă faptul că momentul introducerii furajului în schema de alimentație este unul critic, sporul de creștere înregistrând o scădere bruscă în etapa P4. Adaptarea alevinilor la hrană artificială s-a realizat treptat, astfel încât în etapele P8 și P9 sporul individual de creștere să înregistreze 124,91 mg, respectiv 138,53 mg.

În cea de a zecea etapă de alimentație bazată în exclusivitate pe hrană artificială s-a înregistrat de asemenea o scădere bruscă a sporului de creștere, alevinii acumulând doar 75,24 mg în această fază.

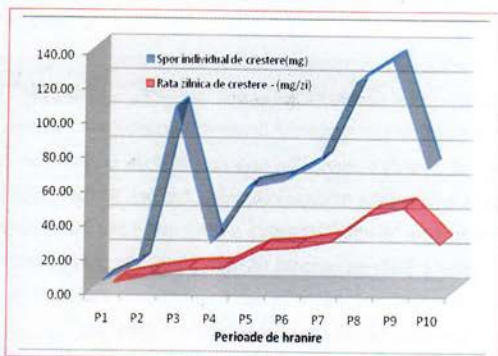


Figura 21. Rata zilnică de creștere și sporul individual de creștere pentru toate variantele de hrănire în perioada dezvoltării larvare și alevinaj la nisetru

În ceea ce privește rata zilnică de creștere, aceasta a înregistrat o creștere constantă pe toată perioada experimentală (de la 1,65mg/zi în P1 până la 46,18 mg/zi în P9) cu excepția ultimei perioade când, odată cu administrarea în exclusivitate a hranei artificiale, s-a înregistrat o scădere cu 45,7% față de etapa precedentă (Tabelul 28). Între rata zilnică de creștere (DGR) și sporul total de creștere (TWG) s-a înregistrat o corelație pozitivă aproape perfectă ($r=0.99$; $p<0.05$; $r^2=0.98$), ecuația ce definește relația dintre cei doi indicatori fiind descrisă printr-o regresie liniară de formă:

$$\text{DGR} = 0,232 \times \text{TWG} - 0,443$$

În figură 23 și figura 24 sunt reprezentați grafic principalii indicatori de creștere și eficiență tehnologică calculați pentru fiecare etapă experimentală în care s-au utilizat diferite formule de hrănire. Astfel, se poate observa că în etapă hrănirii în exclusivitate cu hrană zooplanctonică atât indicatorii de creștere cât și de eficiență (factorul de conversie al hranei) au înregistrat cele mai mici valori. Rata mică de creștere în această perioadă se datorează adaptării la hrănirea exogenă. În studiul de față administrarea hranei exogene a început la 7 zile după eclozare. Numeroși autori consideră că, în cazul nisetruului, momentul trecerii la hrana exogenă poate surveni oricând în perioada 6-9 zile de la eclozare. Rata de creștere mai mică în această perioadă poate fi explicată prin faptul că nu toate exemplarele au

accesat zooplanctonul din primul moment în care acesta a fost oferit, adaptarea în masă realizându-se treptat.

În cea de a doua etapă experimentală, în care larvele au beneficiat de un supliment alimentar constituit din zooplancton (20%) și tubifex (80%), rată specifică de creștere a atins valoarea maximă înregistrată pe parcursul prezentului experiment, anume 12.12%BW/zi.

Dabrowski și col. (1985) a raportat o rată specifică de creștere de maxim 11.7% BW/zi pentru larvele de nisetră hrănite în exclusivitate cu Tubifex. Mohler (2000), studiind creșterea larvelor de nisetră timp de 26 zile cu Artemia a găsit valori ale SGR cuprinse între 4.9-11.1% pe zi. Gisbert și Williot (1997) au raportat că între 10-22 zile post eclozare sturionul siberian, SGR a înregistrat cele mai mari valori. În cazul de față cele mai mari valori ale SGR au fost evidențiate pentru perioada 12 -15 zile post eclozare (Figura 23).

În studiul de față rata de conversie a hranei a înregistrat valori cuprinse între 1.82 pentru larvele hrănite exclusiv cu furaj și 11 pentru perioada hrănirii cu tubifex și furaj, valorile ridicate ale FCR fiind direct proporționale cu ponderea hranei naturale din rație.

Cele mai mari pierderi au fost înregistrate în prima și cea de-a doua perioadă experimentală 0.67%, respectiv 0.34% (Figura 23). Aceste valori apar ca fiind neglijabile comparativ cu raportările din literatură de specialitate în care sunt vehiculate pierderi de până la 65% în prima etapă de hrănire și de până la 20-50% în momentul administrării hranei artificiale (Memis, 2008).

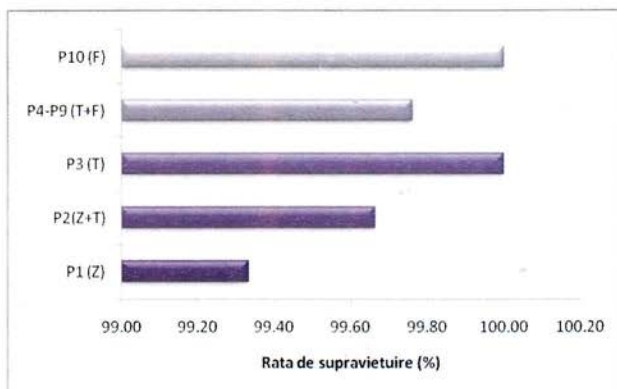


Figura 22. Rata supraviețuirii în perioada de alevinaj la nisetră în funcție de etapa de dezvoltare și strategia de hrănire (Z- exclusiv zooplancton; Z+T –zooplancton și tubifex; T – exclusiv tubifex; T+F –tubifex și furaj; F – exclusiv furaj).

Tabel 28. Tablou sintetic privind indicatorii de creștere și eficiența a hrănirii pentru toate etapele experimentale

Performanța creșterii/pădurii	Total	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Hrană naturală (Zooplancton sa usi Tubifex/Furaj) (g)	4025	100	150	1080	495	450	420	420	420	420	200
Biomasă totală inițială B (g)	48.00	48	62	104	267	344	480	617	825	1124	1440
Număr exemplare inițiale	1500	1500	1488	1485	1485	1482	1477	1471	1468	1464	1462
Greutate inițială medie V _I (mg)	32	32	41.66	70.03	179.79	232.11	324.98	419.44	862	767.7	984.9
Biomasă totală finală B _f (g)	1550	60	89	267	312	436	577	731	1007	1325	1550
Număr exemplare finale	1462	1490	1455	1485	1482	1477	1471	1468	1466	146	1462
Greutate finală medie V _f (mg)	1060	40.26	59.93	179.79	210.5	295.19	392.25	497.95	687	906.3	1060.3
Spor individual de creștere IVG (mg)	1028	8.27	18.27	109.76	30.73	63.07	67.27	78.51	124.9	138.5	75.24
Spor total de creștere TVG (g)	1502	12.00	27.00	163.00	45.00	92.00	97.00	114.00	182	201.0	110.0
Rată relativă de hranire R (g/g/zi)	0.55	0.56	1.00	0.80	0.86	0.57	0.39	0.31	0.23	0.17	0.07
Rată specifică de creștere SGR (% BV/zi)	8.75	4.60	12.12	7.86	5.26	8.01	6.27	5.72	6.69	5.53	2.45
Rată zilnică de creștere DGR (g/zi)	25.70	1.65	6.09	9.15	10.24	21.02	22.42	26.17	41.64	46.18	25.08
FCR (g/g)	2.68	8.33	5.96	6.63	11.00	4.89	4.33	3.68	2.31	2.09	1.82
Pierdere (%)	2.53	0.67	0.34	0.00	0.20	0.34	0.41	0.20	0.14	0.14	0.00

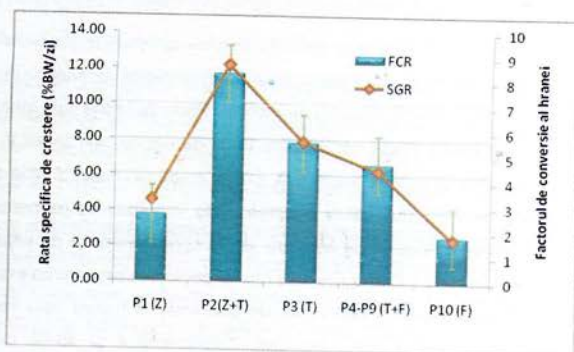


Figura 23. Rata specifică de creștere și factorul de conversie al hranei pentru diferitele etape de hrănire în perioada dezvoltării larvare și alevinaj la nisetru (Z- exclusiv zooplancton; Z+T –zooplancton și tubifex; T – exclusiv tubifex; T+F –tubifex și furaj; F – exclusiv furaj)

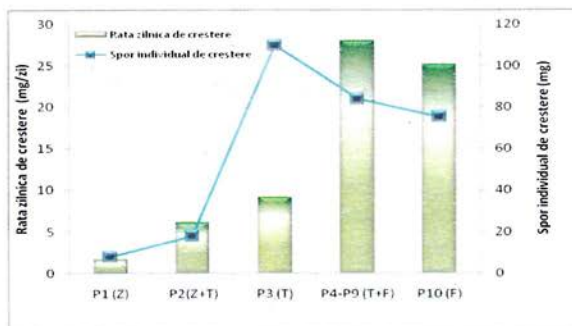


Figura 24. Sporul individual de creștere și Rata zilnică de creștere pentru diferitele etape de hrănire în perioada dezvoltării larvare și alevinaj la nisetru (Z- exclusiv zooplancton; Z+T –zooplancton și tubifex; T – exclusiv tubifex; T+F –tubifex și furaj; F – exclusiv furaj)

3.3.3. Concluzii

Creșterea și dezvoltarea peștilor are loc între anumite limite a factorilor fizico-chimici ai mediului acvatic.

Metode de hrănire:

- Y Hrănirea exclusivă cu hrană naturală, care se bazează pe folosirea fie simplă, fie combinată a unor organisme planctonice și bentonice. Hrană naturală se administrează la *Acipenser guldenstaedti* în stare vie și de regulă combinată în diferite procente.
- Y Cea mai des folosită combinație este de 75% Tubifex sp. și 25% zooplancton dulcicol sau salin. Ambele tipuri de hrană înainte de a fi administrate se supun unui tratament profilactic cu o soluție de 1% de albastru de metilen. Rația de hrană este stabilită zilnic în funcție de greutatea lotului. Rația administrată în 24 de ore se calculează în procent de 100% din greutatea lotului în ziua respectivă. Frații egale din această rație se distribuie la interval de trei ore, atât ziua cât și noaptea. Este important ca pe perioada hrănirii curentul de alimentare al incintei de creștere să fie oprit maxim 30 de minute. Oprirea curentului apei are ca scop evitarea pierderii hranei bentonice prin antrenarea ei de către curentul circulant la evacuare. Coeficientul de conversie al hranei este de 7-10g/spor creștere. Pentru realizarea indicilor biologici, 1-2g/exemplar și 40-60 mm/exemplar, timpul necesar în cazul acestui tip de hrănire este de 28-31 de zile de la eclozare.
- Y Hrănirea larvelor folosind hrană naturală vie în dietă mixtă cu hrană artificială. Hrană naturală constă în zooplancton și bentos în stare vie, iar cea artificială în furaje combinate create special pentru sturioni. Având în vedere că nu toți indivizii se

adaptează la hrană artificială, apar în cadrul populației diferențieri de talie și greutate, iar atunci când se constată diferențe de 5-10 mm, materialul biologic trebuie supus sortării. Indivizii de talie redusă se introduc în căzi în care vor fi hrăniți cu hrană vie, reabilitarea acestora realizându-se într-un interval scurt de 4-6 zile. În general prin acest sistem de hrănire, ritmul de creștere este ușor mai redus ca la perioada hrănirii cu hrană vie, parametrii bioproductivi fiind obținuți după 35-40 de zile cu o supraviețuire de 70-80%. Procentul de hrană și modularea rației trebuie să țină seama de temperatura mediului și de modul cum este tolerat furajul și de specia de cultură întrucât nevoile alimentare sunt specifice fiecăruia.

Există o corelație pozitivă între cantitatea furajului distribuit și supraviețuirea larvelor. Se folosesc câteva modele de administrare a hranei, care au dat rezultate pozitive:

- Y La temperatura de 18°C în primele 15 zile de la trecerea la hrănire exogenă procentul de hrană trebuie să fie de 20% din biomasă. Rația se diminuează la 4% din biomasă la vârsta de 6 săptămâni. Rația se ajustează la interval de două zile. Periodicitatea administrării este de 6 ori pe zi.
- Y În primele 8-10 zile de la trecerea la hrănirea exogenă procentul de hrană trebuie să fie de 30% din biomasă și scade la 2-4 % după a 10 zi.
- Y În primele 4 săptămâni de trecere la hrana exogenă rația trebuie modulată în următoarea manieră: procentul de hrană trebuie să fie de 30% din biomasă în prima săptămână, 20% în cea de-a doua, 10% în cea de-a treia și 7,5% în săptămâna a patra.

Granulația furajului pe durata primelor 8-10 zile de hrănire trebuie să fie de 150 μm, iar la 20-30 de zile aceasta crește la 300- 500 μm. O dată cu creșterea materialului biologic vor putea fi administrate și granule cu diametrul mai mare.

Tranziția de la o granulație la alta trebuie să fie progresivă. Distribuția în primele zile și chiar până la atingerea greutății de 1,5 g trebuie să fie făcută manual, de 6-8 ori/zi, ulterior distribuția poate fi automatizată utilizându-se diferite distribuitoare. Perioadele critice în hrănirea artificială sunt cele de tranziție între două tipuri de furaj sau de la o granulație la alta.

Trecerea se realizează progresiv cu mare atenție respectând următoarea succesiune: 75% regim curent – 25% regim nou, 50% regim curent- 50% regim nou, 25% regim curent- 75% regim nou. Dacă apar probleme de comportament sau se înregistrează pierderi de greutate se renunță la schimbare, se revine la furajul inițial și apoi procedeul este reluat progresiv.

3.4. Rezultate și discuții privind tehnologia dezvoltării și creșterii intensive a nisetului

În vederea optimizării tehnologiei de creștere intensivă a nisetului au fost demarate o serie de experimente ce au vizat evaluarea performanțelor de creștere pentru diferite etape de dezvoltare, în diferite condiții experimentale.

Astfel, în octombrie 2007 a fost demarat un experiment de creștere intensivă a nisetului care a avut drept principal obiectiv compararea performanțelor de creștere în diferite sisteme de producție, utilizând diferite surse de apă (de suprafață și mezotermală).

În acest scop, un lot de 60 pui de nisetru provenind din Stația de reproducere Isaccea, în vârstă de trei ani și jumătate, cu o masă corporală medie de 3,2 kg a fost distribuit randomizat în cele două sisteme de producție, după cum urmează:

30 de exemplare într-un bazin mic de pământ cu apa mezotermală - BAM (Răbăgani);

30 de exemplare în două viviere flotabile -VF (15 exemplare/viviera), V1 și V2 amplasate pe lacul de acumulare Horia (Foto 44).



Foto 44. Bazine alimentate cu apă mezotermală, Răbăgani - jud. Bihor(foto stanga);
viviere flotabile amplasate pe lacul de acumulare Horia, jud.Tulcea(foto dreapta).

Pentru experimentul de față s-a utilizat furaj tip Europa storioni 3P, proteina brută 42 %. Rația zilnică a fost stabilită în conformitate cu recomandările producătorului, anume 0,4 % BW/zi.

Din punct de vedere statistic, populația sturionicolă utilizată în experiment a prezentat o distribuție normală sub aspectul ambelor variabile cantitative studiate: greutate și lungime totală. Sub același aspect, între sistemele de producție nu a existat, la populare, diferențe semnificative din punct de vedere statistic ($p > 0.05$). Valorile medii ale măsurătorilor biometrice inițiale sunt sintetizate în tabelul 29.

Tabel 29. Tablou sintetic privind valorile medii ale măsurătorilor inițiale

Indicator	Sistem producție	BAM	VF
Greutate inițială individuală - Gt (g)		3,2	3,22
Lungime totală inițială individuală -Lt (cm)		101	101,8
Biomasa totală inițială (kg)		96	96,6
Număr de exemplare (buc)		30	30

Evaluarea finală a experimentului a fost realizată în luna iulie 2010. Pe baza măsurătorilor efectuate s-au calculat principalii indicatori statistici, prezentați sintetic în tabelul 30. Populațiile aparținând celor două loturi experimentale au fost relativ omogene la finalul experimentului atât în ceea ce privește variabila greutate cât și variabila lungime. Atât pentru nisetri crescuți în viviere flotabile cât și pentru cei crescuți în condiții mezotermale în bazine de pământ s-a înregistrat o distribuție normală a valorilor greutăților, situație sugerată de figura 24 și de testul KS care a evidențiat o abatere nesemnificativă de la o distribuție normală ($p > 0.05$).

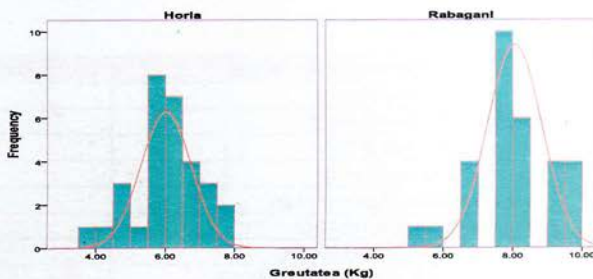


Figura 25. Distribuția normală a greutăților înregistrate la finalul experimentului în cele două sisteme de producție

Tabel 30. Tablou sintetic privind indicatorii statistici calculați pentru valorile greutăților individuale înregistrate la finalul experimentului

Statistici descriptive	Horia	Răbăgani
Media	6.03	8.06
Mediană	6.00	7.92
Variantă	0.92	1.37
Deviația standard	0.96	1.17
Minim	3.70	5.26
Maxim	7.90	9.98
Skewness	- 0.39	- 0.47
Kurtosis	0.33	0.18
Coefficient de variație CV (%)	15.90	14.50

Așa cum se poate observa în tabelul 29 media greutăților individuale (\pm SD) înregistrate la finalul experimentului a fost de 8.06 ± 1.17 kg pentru nisetrii crescuți la Răbăgani comparativ cu 6.03 ± 0.96 Kg înregistrată pentru nisetrii crescuți la Horia, în viviere flotabile. Aceste diferențe au fost găsite ca fiind semnificative din punct de vedere statistic ($p < 0.05$, testul t independent).

De asemenea, comparativ cu momentul inițial, când omogenitatea loturilor a fost mare pentru ambele loturi experimentale, la finalul experimentului se poate observa că, în cazul exemplarelor de la Horia, coeficientul de variație a înregistrat valori peste pragul de 15% ceea ce sugerează o ușoară heterogenitate a acestui lot comparativ cu lotul de nisetrii de la Răbăgani unde, CV a fost de 14.50%.

Diferențele semnificative ale mediilor greutateților individuale din loturile experimentale monitorizate sunt reflectate de diferențe notabile între valorile indicatorilor tehnologici înregistrați și sintetizați în tabelul 31.

Tabel 31. Tablou comparativ privind indicatorii de creștere și eficiență a hrănirii la nisetrul crescut în viviere flotabile (Horia) și bazine mici de pământ cu apă mezotermală (Răbăgani)

Performanța de creștere	Horia	Răbăgani
Biomasa totală inițială Bi (Kg)	96	96
Greutatea inițială medie Wi (g)	3.20	3.20
Biomasa totală finală Bf (Kg)	180.60	241.80
Greutatea finală medie Wf (g)	6.02	8.06
Spor individual de creștere IWG (g)	2.82	4.86
Spor total de creștere TWG (kg)	84.60	145.80
Rata relativă de hrănire R (g/kg/zi)	0.70	0.62
Rată specifică de creștere SGR (% BW/zi)	0.37	0.54
Rata zilnică de creștere DGR (g/kg/zi)	0.02	0.03
FCR (g/g)	1.77	1.03
Eficiența reținerii proteinei - PER (g)	0.51	0.81

Astfel, sporul individual de creștere înregistrat pentru nisetrii crescuți cu apă mezotermală a fost de 4.86 kg, cu aproximativ 60% mai mare decât valoarea înregistrată pentru nisetrii crescuți în viviere flotabile care au acumulat doar 2.82 kg/exemplar.

În acest context, rata specifică de creștere a fost de 0.37% pentru sturionii crescuți în viviere flotabile, comparativ cu 0.54 % pentru nisetrii crescuți la Răbăgani.

Valorile înregistrate în studiul de față sunt mai mici decât majoritatea referințelor bibliografice studiate.

Acest fapt se datorează unei perioade experimentale foarte lungi la care se face referință (34 luni) ce cuprinde 2 sezoane reci pe durata cărora cantitatea de hrană administrată a scăzut direct proporțional cu temperatura.

Cu toate acestea, eficiența hrănirii a fost ridicată, factorul de conversie al hranei atingând valoarea 1.03 pentru sturionii de la Răbăgani și 1.77 pentru sturionii de la Horia.

În anul 2008 a fost, de asemenea, demarat și realizat un experiment în care s-a urmărit ritmul de creștere la nișetrii în vârstă de 1 an.

Experimentul s-a desfășurat în perioada 20.05.2008-07.11.2008. La momentul populării greutatea individuală medie pentru ambele loturi experimentale a fost de 120g.

La finalul experimentului, după 172 de zile, lungimea totală a exemplarelor monitorizate a fost înregistrată cu o precizie de 0,5 cm în timp ce greutatea a fost evaluată cu ajutorul unui cântar electronic cu o precizie de 0,001 g.

Măsurătorile biometrice cât și indicele greutate/lungime sunt redată în tabelul 31.

Pe baza măsurătorilor efectuate s-au determinat o serie de indicatori tehnologici care evidențiază, pe lângă rata de creștere, eficiența conversiei hranei și a utilizării proteinelor.

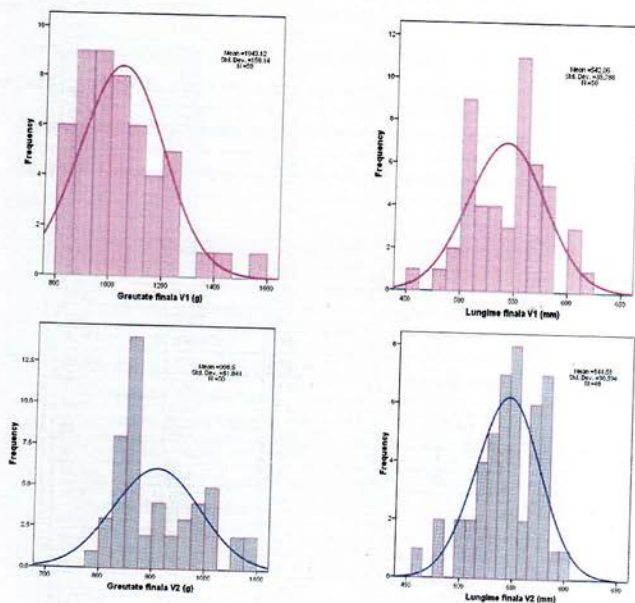


Figura 27. Distribuția normală a variabilelor cantitative studiate (greutate și lungime totală)

În anul 2008 a fost, de asemenea, demarat și realizat un experiment în care s-a urmărit influența frecvenței hrănirii asupra ritmului de creștere la nisetri în vârstă de 1 an. Experimentul s-a desfășurat în perioada 20.05.2008-07.11.2008, timp în care s-a testat în ce măsură administrarea hranei cu o frecvență mai mare (5 ori/zi – Lotul 2) contribuie la îmbunătățirea performanțelor de creștere comparativ cu utilizarea unei frecvențe moderate de furajare (3 mese/zi – Lotul 1). La momentul popularii greutatea individuală medie pentru ambele loturi experimentale a fost de 120g. La finalul experimentului, după 172 de zile, lungimea totală a exemplarelor monitorizate a fost înregistrată cu o precizie de 0,5 cm în timp ce greutatea a fost evaluată cu ajutorul unui cântar electronic cu o precizie de 0,001 g. Măsurătorile biometrice cât și indicele greutate/lungime sunt redată în tabelul 30.

Tabel 32. Măsurători biometrice realizate la finalul experimentului de creștere intensivă a nisetrelui

Nr. Crt.	Lotul 1			Lotul 2		
	Greutate (g)	Lungime (mm)	Raport G/L	Greutate (g)	Lungim e (mm)	Raport G/L
1	1034	600	1,72	1058	580	1,82
2	1040	620	1,68	866	540	1,60
3	1104	550	2,01	938	550	1,71
4	1022	560	1,83	1005	520	1,93
5	1145	570	2,01	1020	550	1,85
6	993	580	1,71	826	480	1,72
7	994	540	1,84	865	520	1,66
8	995	550	1,81	830	540	1,54
9	1065	550	1,94	825	550	1,50
10	1210	600	2,02	830	540	1,54
11	1440	580	2,48	785	570	1,38
12	1103	520	2,12	892	580	1,54
13	923	580	1,59	870	570	1,53
14	1185	550	2,15	982	570	1,72
15	1255	570	2,20	870	540	1,61
16	1020	570	1,79	1051	600	1,75
17	968	570	1,70	855	570	1,50
18	1080	560	1,93	1013	540	1,88
19	1230	570	2,16	918	550	1,67
20	1360	600	2,27	1022	560	1,83
21	1080	510	2,12	866	540	1,60
22	1125	580	1,94	860	530	1,62
23	910	550	1,65	800	520	1,54
24	1245	580	2,15	974	580	1,68
25	865	520	1,66	800	500	1,60
26	1080	550	1,96	952	580	1,64
27	1140	560	2,04	972	570	1,71
28	1000	540	1,85	976	540	1,81
29	970	530	1,83	834	520	1,60
30	1240	570	2,18	874	570	1,53
31	1060	550	1,93	800	460	1,74
32	990	510	1,94	830	480	1,73
33	860	500	1,72	874	550	1,59

34	920	490	1,88	1080	580	1,86
35	920	490	1,88	905	530	1,71
36	880	510	1,73	840	510	1,65
37	954	510	1,87	890	550	1,62
38	1018	530	1,92	869	510	1,70
39	1180	560	2,11	830	550	1,51
40	1570	540	2,91	980	580	1,69
41	920	530	1,74	1020	590	1,73
42	920	530	1,74	917	580	1,58
43	910	520	1,75	900	500	1,80
44	860	500	1,72	860	550	1,56
45	885	480	1,84	870	530	1,64
46	830	500	1,66	947	530	1,79
47	830	500	1,66	851	530	1,61
48	998	503	1,88	983	560	1,76
49	860	450	1,91	1100	57	1,93
50	970	520	1,87	850	54	1,57

În figura 27 sunt redată histograma și, implicit, curbele de distribuție ale populațiilor reprezentate de valorile măsurătorilor de greutate și lungime efectuate la debutul și finalul experimentului pentru cele două loturi experimentale. Testarea statistică a confirmat faptul că ambele loturi s-au distribuit normal atât după variabila lungime cât și după variabila greutate.

Pe baza măsurătorilor efectuate s-au determinat o serie de indicatori tehnologici care evidențiază, pe lângă rata de creștere, eficiența conversiei hranei și a utilizării proteinelor.

Rata specifică de creștere în cazul nisetrului de 1 an a fost de 1.18-1.26%.

Tabel 33. Tablou sintetic privind indicatorii de creștere și eficiența a hrănirii pentru cele două loturi experimentale

Performanța creșterii peștilor	Lotul 1	Lotul 2
Furaj total administrat (Kg)	40.80	40.80
Număr exemplare	50.00	50.00
Biomasa totală inițială Bi (Kg)	6.00	6.00
Greutatea inițială medie Wi (g)	120.00	120.00
Biomasa totală finală Bf (Kg)	52.15	45.42
Greutatea finală medie Wf (g)	1043.12	908.50
Spor individual de creștere IWG (g)	923.12	788.50
Spor total de creștere TWG (kg)	46.15	39.42
Rata relativă de hrănire R (g/kg/zi)	2.17	2.29
Rată specifică de creștere SGR (% BW/zi)	1.26	1.18
Rata zilnică de creștere DGR (g/kg/zi)	5.37	4.58
FCR (g/g)	0.88	1.03
Efficiența reținerii proteinei - PER (g)	2.46	2.10

Utilizarea unor furaje necorespunzătoare, atât din punct de vedere calitativ cât și cantitativ, conduce la diferențe individuale de greutate și lungime și, de multe ori, la creșterea cantității de furaje neconsumate (deșeuri) care viciază mediul acvatic, pe de o parte, și obținerea de producții mai mici, pe de alta parte (Simensen et al, 2000).

Distribuția rației zilnice în mai multe porții a avut ușoare efecte negative asupra creșterii. Astfel, reducerea frecvenței hrânirii de la 5 la 3 ori pe zi a condus la o greutate corporală finală semnificativ mai mare ($P < 0,05$) pentru lotul 1 comparativ cu lotul 2. De asemenea, atât rata specifică de creștere (SGR) cât și rata zilnică de creștere (DGR) a fost mai mare în cazul nisetrilor furajați de 3 ori pe zi comparativ cu cei furajați de 5 ori pe zi. În studiul de față, eficiența hrânirii și a utilizării proteinelor a fost diminuată odată cu creșterea numărului de mese de distribuție a furajelor (Tabel 31).

Supraviețuirea a fost de 100% în ambele tratamente pe parcursul întregii perioade de testare.

Rezultatele prezentate în acest studiu au fost similare cu rezultatele obținute de Mohseni et al. (2006) care a urmărit influența diferitelor intensități și frecvențe de hrânire asupra performanțelor tehnologice la specia *Huso huso*.

Atât în studiul menționat cât și în studiul de față s-a observat că, în cazul sturionilor, timpul mai mare de retenție al hranei în tractul digestiv permite o mai bună utilizare a hranei. Gershanovich și Taufik (1992) au observat, de asemenea, că timpul mai mare între mese permite o mai bună utilizare a nutrienților și acest lucru este mai probabil să apară atunci când peștele nu este alimentat la sațietate.

Shearer (1994) și Jobling et al. (1995) au ajuns la aceleași concluzii după testarea dieritelor frecvențe de hrânire la alte specii. Ambele, nivelul prea scăzut de furajare sau supraalimentarea, au consecințe economice grave în acvacultură. Un control precis asupra consumului de furaje în sturionicultură este dificil, deoarece aceștia, fiind bentofagi, accesează numai zona de fund a unităților de creștere. Furajele joacă un rol esențial în orice tip de sistem de acvacultură și contribuie cu aproximativ 50% din totalul costului de producție (Rad et al., 2003). Din acest considerent, studiul suplimentare privind activitatea diurnă la sturioni sunt dezirabile deoarece ajustarea programului de hrânire ar trebui făcută în funcție de aceste ritmuri biologice, mai degrabă decât să se utilizeze tabele de furajare, care sunt fixe și neadaptate pentru diferitele specii sau specificul fiecărei populații.

Concluzii

Randamentul mediu anual de creștere la specia *A. guldenstaedti*, depinde în primul rând de condițiile de mediu, calitatea și temperatura apei dar și de calitatea hranei.

Analizând evoluția lotului de nisetru supus experimentului de creștere în cuști flotabile, în lacul de acumulare Horia în anul 2005 la vârsta de 14 luni, am constatat că pentru nisetrii în vârstă de 55 luni acest randament mediu de creștere a fost de 100/120 grame/lună, respectiv 1300–1500 grame/an.

x Dacă analizăm perioada de creștere începând cu anul 3 de viață acest raport se modifică, ajungând la un ritm de creștere anual de 1500–1800 g/an.

x Rata de conversie a furajului consumat, pentru un furaj de bună calitate este de 1,2 kg furaj/1 kg carne sturion.

x Creșterea speciei *A.guldenstaedti* în acvacultura, în condiții intensive, depinde de condițiile de calitate a apei, de temperatură acesteia, de calitatea și cantitatea furajelor administrate și nu în ultimul rând de aplicarea corectă a tehnologiei de creștere;

x Începând din anul 4 de viață se poate face prin utilizarea metodei ecografice, separarea pe sexe în vederea comercializării masculilor și creșterii în continuare a femelelor pentru obținerea caviarului;

x Masculii în vârstă de patru ani, crescuți în acvacultura sunt maturi din punct de vedere sexual și apti pentru a fi folosiți la activități de reproducere;

x Femelele în vârstă de 4 ani au gonadele în stadiul de dezvoltare doi spre trei;

x Comparativ cu datele din literatura de specialitate, ritmul de creștere și gradul de maturare a gonadelor este mult mai rapid în condițiile creșterii nisetrului (*Acipenser guldenstaedti*) în acvacultură comparativ cu creșterea în mediul sălbatic, natural;

x Temperatura optimă de creștere pentru nisetru (*Acipenser guldenstaedti*) este de 18–22 grade Celsius;

x Densitatea optimă la populare în bazinele de creștere în sistem superintensiv a speciei nisetru (*Acipenser guldenstaedti*) este de 30–40 kg/m.c. apă;

x Exemplarele din specia nisetru (*A.guldenstaedti*), pot fi crescute în sistem intensiv în:

x Bazine din fibră de sticlă de 2–6 m diametru;

x Bazine din PVC cu cadru din aluminiu cu diametru de 4–6 m;

x Heleștee mici de 150–200 m.p., izolate cu folie EPDM;

x Cuști sau viviere flotabile cu diametre de 6 sau 12 m.p.

Toate modelele pot fi folosite în sistem deschis sau în sistem de recirculare.

3.5. Rezultate și discuții privind elaborarea modelului de creștere la nisetru

3.5.1. Elaborarea modelului de creștere la nisetru în perioada de alevinaj

Modelele de creștere ale peștilor prezentate în literatura de specialitate variază în funcție de diferiții factori luați în considerare precum: mărimea peștilor, componentelor anabolice și catabolice ale metabolismului peștilor, de calitatea și cantitatea hranei, calitatea apei. Astfel, aceste modele pot fi exponențiale, liniare sau asimptotice. Trecerea de la o creștere exponențială la o creștere asimptotică este datorată unor limite impuse de componenta mediu și/sau dimensiunile maxime ale speciei.

În cazul larvelor de nisetri s-a observat că, atât pentru lungime cât și pentru greutate, creșterea în primele 36 de zile a fost exponențială (Fig. 27).

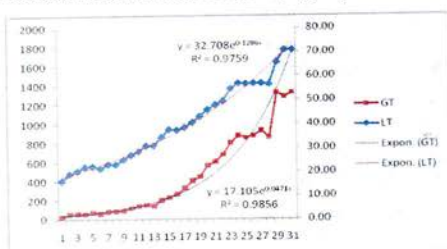


Figura 27. Curba de regresie pentru greutate și lungime la nisetru în primele 36 de zile de viață

În ceea ce privește relația dintre greutate și lungime, aceasta este definită printr-o regresie de tip putere (Fig. 28). În acest caz s-a observat că în proporție de 98.9 % variabila independentă (Lungime) explică variația variabilei dependente (Greutate).

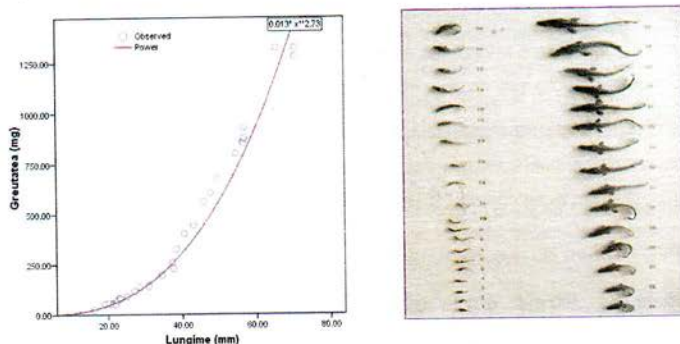


Figura 28. Curba de creștere și ecuația de creștere la nisetru în primele 36 de zile de viață

Factorul de condiție Fulton reprezintă un indicator cu grad mare de semnificație în ceea ce privește starea generală și de îngrășare a peștilor, aceasta aflându-se în strânsă corelație cu condițiile mediale la care aceștia sunt expuși (Reynold, 1968 citat de Olurin și Aderibigbe, 2006). De asemenea, analiza relației lungime–greutate oferă informații cu privire la modelele de creștere pe care peștii le urmează în contextul menținerii pe perioade lungi de timp în diferite condiții de mediu (Bagenal și Tesch, 1978 citați de Olurin și Aderibigbe, 2006)

Inițial, factorul de condiție Foulton a fost descris cu relația $K=W/L^3$, unde W și L reprezintă greutatea respectiv lungimea individuală. Numeroși autori însă, în urma unor experimentări efectuate pe loturi cu specii diferite de pești, au concluzionat că ecuația factorului de condiție nu permite comparații între indivizi cu talii diferite, aceasta datorându-se în principal utilizării exponentului 3 a cărei valoare nu exprimă o relație lungime-greutate reală pentru majoritatea speciilor de pești la care creșterea nu este de tip izometric ci este de tip alometric. Din acest motiv, o mare parte din autorii citați propun utilizarea factorului alometric calculat prin intermediul relației $K=W/L^b$, unde b , coeficientul alometric, este estimat din ecuația lungime-greutate.

În literatura de specialitate sunt descrise mai multe metode de estimare a exponentului b , cea mai utilizată fiind însă ecuația regresiei valorilor logaritmice a greutateilor și lungimilor măsurate.

$$\ln W = a + b \ln L$$

Această metodă a fost aplicată și în cazul de față, iar ecuațiile de regresie pentru valorile logaritmice ale greutateilor și lungimilor larvelor de nisetru au fost calculate în scopul determinării coeficientului de regresie a cărui valoare a fost de 2,97 (Fig.30) și care reprezintă valoarea factorului alometric pe baza căruia se calculează Factorul de condiție, K .

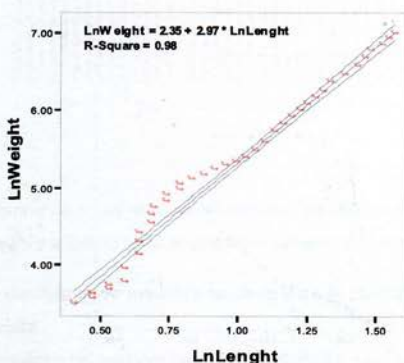


Figura 29. Curba de regresie liniară pentru valorile logaritmice ale variabilelor greutate și lungime la nisetru în primele 36 de zile de viață

Pentru primul experiment, în care s-a testat influența regimului de hrană asupra creșterii și dezvoltării larvelor și alevinilor de nisetru, factorul de conversie a luat valori de la 1.13 la 1.63, înregistrând valori medii de 1.41 ± 0.16 pentru lotul căruia i s-a administrat dietă naturală (DN), 1.38 ± 0.19 pentru lotul care a primit dietă mixtă (MD) și 1.36 ± 0.23 pentru lotul căruia i s-a administrat dieta artificială (AD). Compararea valorilor medii ale factorului de condiție, K calculat pentru cele trei variante experimentale a evidențiat diferențe nesemnificative între loturile testate (ANOVA, $p > 0.05$).

Pe parcursul experimentului de creștere a larvelor de nisetru s-a înregistrat o tendință de descreștere a valorilor factorului de condiție. O situație similară a fost descrisă de Memis și col. (2009), cu diferența că valorile minime înregistrate de noi au fost considerabil mai mari (1,13 comparativ cu 0,3).

În cazul celui de-al doilea experiment, în care s-a urmărit eficiențierea hrănirii larvelor de nisetru prin elaborarea unui program nutrițional adecvat, s-au obținut rezultate similare în ceea ce privește modelul creșterii. Astfel, prin determinarea parametrilor modelului de creștere sintetizat în tabelul de mai jos, s-a obținut un coeficient alometric de 2.97 care a permis predictarea unor greutatea și confirmarea validității modelului prin plotarea greutăților observate și a celor predictate (Fig. 32) și obținerea unui coeficient de corelație semnificativ ($p < 0.001$) de 0.998 (coeficient Pearson).

Tabel 34. Tablu sintetic privind parametrii statistici estimați pentru modelul creșterii larvelor de nisetru

Ecuația	Model					Parametrii estimați	
	R^2	F	df1	df2	Sig.	Constanta	b1
Putere	.976	1536.600	1	38	.000	10.519	2.970

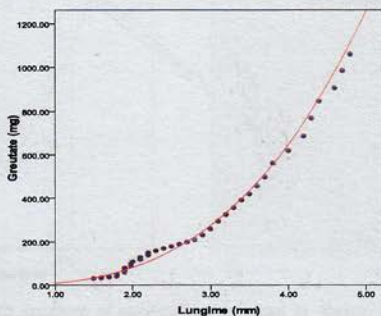
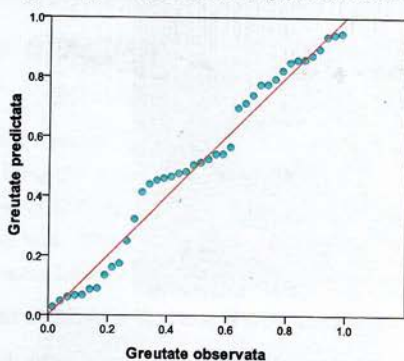


Figura 30. Curba de regresie pentru variabilele greutate și lungime la larvele de nisetru

Figura 31. Diagrama greutăților observate și predictate la larvele de nisetri



Pentru cel de-al doilea experiment, în care s-a urmărit elaborarea unui program nutrițional adecvat creșterii intensive a larvelor de nisetrul, factorul de conversie a luat valori de la 0.73 la 1.44, înregistrând valoarea medie de 1.06 ± 0.17 . Din figura 31 se poate observa că cele mai mici valori au fost înregistrate imediat după trecerea la hrana exogenă, cele mai mari valori fiind înregistrate pe perioada administrării în proporție de 100% de hrană naturală bentică.

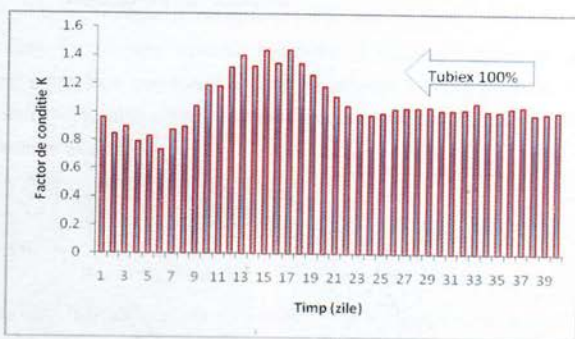


Figura 32. Factorul de condiție K, valori calculate pe parcursul experimentului de optimizare a tehnologiei de hrănire a larvelor de nisetrul

3.5.2. Elaborarea modelului de creștere la nisetrul de la stadiul de puiet până la talia comercializabilă

În cadrul experimentelor de creștere intensivă a nisetrului s-au realizat un număr mare de măsurători biometrice pentru diferitele loturi experimentale, pe baza cărora s-au elaborat modele de creștere în funcție de condițiile mediale și tehnologice.



Foto 45. Măsurători realizate în Ferma Horia în anul 2008 la nisetrii de 18 luni

În capitolul de față vom rezuma observațiile la cele mai reprezentative date și anume măsurătorile efectuate la nisetrii în vârstă de 1 an. În cadrul celor două variante experimentale monitorizate, V_1 și V_2 s-a testat influența frecvenței hrănirii (5 mese/zi versus 3 mese/zi) asupra performanțelor de creștere și a stării de întreținere reflectată de valoarea factorului de condiție.

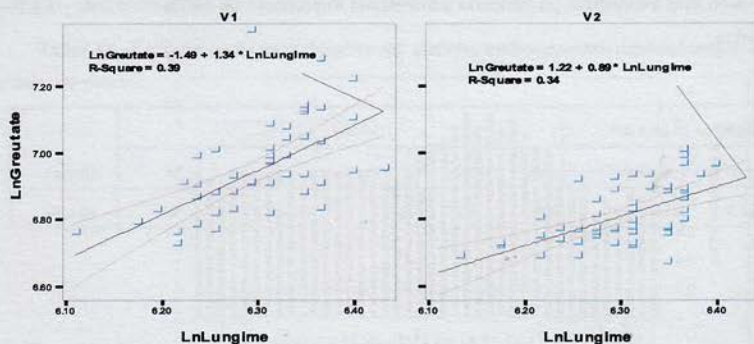


Figura 33. Curba de regresie liniară pentru valorile logaritmice ale variabilelor greutate și lungime pentru cele două variante experimentale

Astfel, așa cum se observă în figura 33, factorul alometric, reprezentat de coeficientul b al ecuației de regresie, a luat valoarea 1.34 pentru varianta experimentală V_1 și valoarea 0.89 pentru varianta V_2 . În ceea ce privește factorul de condiție, din punct de vedere statistic nu s-au înregistrat însă diferențe semnificative între cele două loturi ($p > 0.05$).

CERCETARI PRIVIND EFECTUAREA SEXAJULUI TIMPURIU SI EVALUAREA GRADULUI DE MATURARE A GONADELOR LA NISETRU

În experimentul de sexare a sturionilor prin utilizarea tehnicii ecografice au fost investigați 9 sturioni. Ecograful portabil utilizat a fost marca „Veterinary Palm Smart B Ultrasound Scanner Wed-3000V”, tipul de sondă utilizată fiind recomandat și de literatura de specialitate (Chebanov, M.S., 2005). Așa cum se observă în foto. 45 ecograful a fost complet echipat cu un laptop adiacent pentru achiziția, în timp real, a imaginilor.



Foto 46. Ecograful portabil marca „Veterinary Palm Smart B Ultrasound Scanner Wed-3000V” utilizat în experimentul de sexare a sturionilor în cadrul stației de reproducere artificială SC Kaviar House Srl

Acest lucru va permite stocarea imaginilor și odată cu marcarea exemplarelor scanate, se vor putea face comparații în ceea ce privește evoluția dezvoltării ulterioare a gonadelor. În acest mod, după sistematizarea și procesarea imaginilor obținute, se va crea o bază de date extrem de utilă.



Foto 47. Sondă liniară de 7,5 MHz folosită pentru scanarea frontală a gonadelor. Sonda se mișcă ușor de la coadă către cap

În prealabil, sturionii au fost aneștizați prin electronarcoză (foto 47), prin aplicarea unui șoc electric.



Foto 48. Exemplar de *Acipenser ruthenus* supus electronarcozei

Sturionii investigați prin metoda ecografică (tab. 1) făceau parte din lotul de remonți și reproducători ai fermei SC Kaviar House SRL. Pentru stabilirea gradului de maturare la exemplarele investigate s-au prelevat probe (ovocite) cu ajutorul sondei canelate (fig. 5) (tub semicilindric cu diametrul exterior de 3 mm și lungime de aproximativ 20 cm, cu un capăt rotunjit) construită special în acest scop. Ovocitele au fost fierte în apă timp de 5 minute și apoi secționate cu un bisturiu pentru determinarea indicelui de polarizare (IP).

De menționat faptul că, de un real folos, ne-au fost îndrumările descrise de Chebanov, M.S. și Chimyr, Y.N., 2005 atât în ceea ce privește organizarea punctului de lucru, cât și în ceea ce privește lucrul cu ecograful, achiziția imaginilor și interpretarea lor

Table 32. Biometria sturionilor investigați prin ecografie în vederea stabilirii sexului și/sau a gradului de maturare

Nr. crt.	Specia	Greutate (kg)	Lungime totală (cm)
1.	<i>Acipenser ruthenus</i>	1,924	71
2.	<i>Acipenser ruthenus</i>	1,272	68
3.	<i>Acipenser ruthenus</i>	1,064	63
4.	<i>Acipenser stellatus</i>	4,750	118
5.	<i>Acipenser guldenstaedti</i>	5,100	93
6.	<i>Acipenser stellatus</i>	9,250	139
7.	<i>Acipenser guldenstaedti</i>	4,800	93



Foto 49 Sondă folosită pentru realizarea biopsiilor de control.

Se observă ovocitele mature, cu vezicula germinală la polul animal
(extremitatea mai deschisă la culoare)

Identificarea sexului peștilor este determinată de particularitățile morfo-anatomice ale tipului de gonadă. Chebanov, M.S. și Chimyr, Y.N. (2005) apreciază că în secțiune frontală se pot observa (de la suprafața plană a sondei liniare în profunzime) următoarele țesuturi și organe:

- ✓ Tegumentul ca fiind o regiune hiperechoică;
- ✓ Țesutul subcutanat de grăsime, cca. 2-3 mm, ca fiind o regiune mid-echoică;
- ✓ Țesutul muscular – apare sub forma unor benzi verticale, ușor înclinate ce reprezintă mioamele separate prin țesutul conjunctiv, cu o luminozitate mai mare (benzi alternative mai luminoase decât țesutul muscular);
- ✓ Membrana conjunctivă care căpătușește cavitatea abdominală apare ca o linie bine delimitată și luminoasă;
- ✓ Gonada propriu-zisă poate fi sau nu acoperită de stratul tecal – teaca – mai mult sau mai puțin evidentă în funcție de gradul de maturare al gonadei. Gonada are structura cea mai complexă, cu o variabilitate mare în ceea ce privește echogenitatea: hiperechoică, hipoechoică, anaechoică sau un mixaj al acestora.
- ✓ Colonul poate fi localizat în funcție de poziția sondei (transducer-ului) și poate apărea ca un tub gol sau văscos.
- ✓ În funcție de poziționarea sondei și adâncimea de scanare aleasă este posibil să observăm că „în oglindă” cealaltă parte a peștelui, așezarea țesuturilor fiind în ordine inversă (fig.40)

Din analiza imaginilor preluate de sonda ecografului am selectat cele mai sugestive imagini care ne-au permis să facem o serie de considerații preliminare în ceea ce privește identificarea sexului la sturioni și aprecieri asupra gradului de maturare al gonadelor.



Figura 34. Secțiune frontală a gonadei exemplarului 2 – *Acipenser ruthenus*. (♀)

În figura 34 se observă central o structură mai luminoasă, o zonă bine delimitată în plan vertical de două paliere mai deschise la culoare fapt care ne-a indus în eroare nefiind siguri cărui sex îi aparține. În urma prelevării biopsiei, exemplarul analizat a fost certificat ca fiind o femelă în stadiul II - III, cu dezvoltare asincronă și cu foarte mult țesut adipos.



Figura 35. Secțiune frontală a gonadei exemplarului 3 – *Acipenser ruthenus*. (♀)

În fig. 35. este ilustrata structura gonadei, ușor granulară, uniformă, a unei femele de cegă aflată în stadiul III de maturare cu țesut germinal ovarian relativ distinct.

Biopsia confirmă structura ovarului.

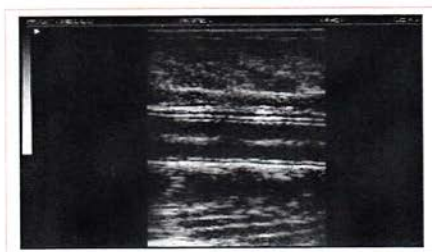


Figura 36. Secțiune frontală a gonadei exemplarului 4 – *Acipenser stellatus* (♂)

Exemplarul nr. 4 analizat este un mascul de *Acipenser stellatus* (fig. 36) în stadiul II-III de maturitate.

Secțiunea din figură relevă gonada masculă subțire, mai luminoasă, distinctă deasupra stratului de grăsime. Este singura imagine în care se observă cealaltă parte a peștelui ca o imagine în oglindă.



Figura 37. Secțiune frontală a gonadei exemplarului 5 – *Acipenser guldenstaedti* (♀)

Imaginea din fig. 37 se distinge prin alternanța, nu foarte evidentă, a unor zone luminoase cu altele mai întunecate ceea ce ne-a determinat să apreciem că exemplarul în cauză este o femelă de *A. guldenstaedti*. Gonada pare în proces de vitelogeneză, stadiul III-IV. Biopsia confirmă sexul femel al sturionului .

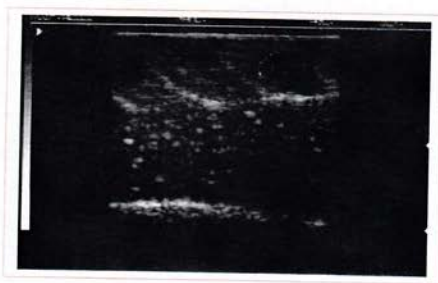


Figura 38. Secțiune frontală a gonadei exemplarului 6 – *Acipenser stellatus* (♀)

Figura 38 oferă cea mai clară imagine a unui ovar matur, aflat în apropierea stadiului de ovulație (IV A spre IV B). Se observă structura granulară dată de prezența ovocitelor mature. Aceste ovocite sunt mari, omogene. Biopsia confirmă imaginea ecografică.

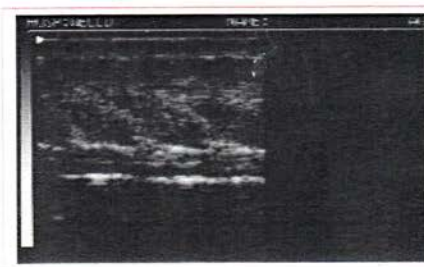


Figura 39. Secțiune frontală a gonadei exemplarului 7 – *Acipenser guldenstaedti* (♂)

Imaginile din figurile 39, 40, 41 indică sexul masculin pentru exemplarele de nisetru de 4 ani cu gonade aflate în stadiul III de maturare. Se observă marginile netede ale gonadelor, specifice testiculelor (Chebanov, M.S. și Chimyr, Y.N.,2005). Afirmatia noastră a fost confirmată ulterior prin sacrificarea exemplarului 7.



Figura 40. Secțiune frontală a gonadei exemplarului 8 – *Acipenser guldenstaedti* (♂)



s

Figura 41. Secțiune frontală a gonadei exemplarului 9 – *Acipenser guldenstaedti* (♂)



Foto. 50. Gonada masculină de nisetru – secțiune transversală (♂)

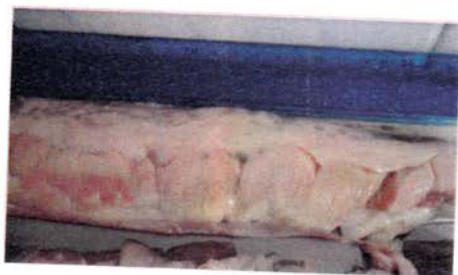


Foto. 51. Gonadă feminină de nisetru crescut în acvacultură – varstă 55 luni (♀) ;



Foto 52. Prezentarea comparativă a gonadelor masculine și feminine (recoltate de la exemplare de nisetru de 55 luni crescute în acvacultură)

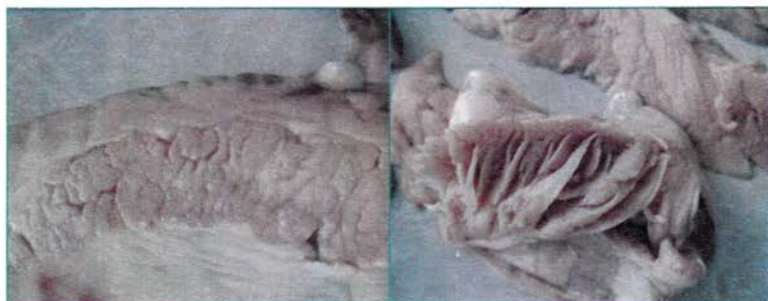


Foto original 53 , 54. Gonade feminine (♀) *A. guldenstaedti* – provenite de la exemplare crescute în acvacultură – vârsta 75 luni, evaluate a fi în stadiul trei de dezvoltare;



Foto original 55. Prezentarea comparativă a gonadelor masculine și feminine (recoltate de la exemplare de 75 luni crescute în acvacultură) specia *A. Guldenstaedti*



Foto original 56. Gonade feminine (♀) *A. guldenstaedti* – provenite de la exemplare crescute în acvacultură – vârsta 88 luni, evaluate a fi în stadiul de dezvoltare IV A;

În urma experimentului de sexare a remonților și reproducătorilor de sturioni de la ferma Horia, a SC Kaviar House SRL, putem aprecia că ecografia este o alternativă viabilă din punct de vedere economic pentru identificarea sexului la sturioni. De altfel, modelul achiziționat reprezintă un instrument tehnic prețios, performant, extrem de util pentru separarea precoce a femelelor de masculi din populația fermei.

Acest experiment a fost primul pas de acest fel realizat în România pentru aplicarea unei metode neinvazive de sexare a sturionilor, putând fi folosit cu succes și în aprecierea gradului de maturare al gonadelor și diferențierii între sexe. Desigur, activitatea în sine a parcurs o serie de realizări dar și de întrebări care pe parcurs, o parte au primit răspuns, iar o altă parte va necesita timp, perseverență și experiență pentru rezolvare.

Câteva concluzii preliminare s-au desprins din acest experiment:

- ✓ modelul achiziționat de ecograf portabil permite investigarea și identificarea sexului la sturioni. Este important ca ecografii să fie echipat cu o unitate PC/laptop, pentru achiziția de imagini;
- ✓ ecogramele obținute pot fi stocate într-un laptop/PC realizând o bază de date valoroasă și care pe parcursul acumulării experienței va constitui un excelent material bibliografic pentru diverși specialiști și/sau studenți de la specializările interesate de creșterea peștilor din cadrul instituțiilor de învățământ superior din România;
- ✓ scanner-ul trebuie să fie echipat cu o sondă (transducer) liniară, cu o frecvență de 5-9 MHz/40-80 mm;
- ✓ atât în timp real cât și pe baza ecogramelor obținute se pot determina stadii timpurii de dezvoltare ale gonadelor (începând cu stadiile II-III);
- ✓ structura gonadelor relevată prin ecografie depinde de particularitățile anatomo-histologice ale țesuturilor din componența gonadei: țesutul germinativ, conjunctiv și adipos;
- ✓ În experimentul nostru, din totalul de 9 sturioni investigați, au fost identificați prin ecografiere: 4 masculi, 4 femele, 1 exemplar caruia nu i s-a putut identifica sexul.
- ✓ La biopsie, exemplarul cu sexul neidentificat (ex. nr. 2) a fost observat și identificat ca fiind femelă.
- ✓ Deci, eroarea de identificare a sexului sturionilor a fost de 11% (1 exemplar din totalul de 9 investigate);
- ✓ Punctul de lucru trebuie foarte bine organizat astfel încât să se asigure continuitatea operațiilor, cu o manipulare minimă a peștilor pentru a reduce stresul, pentru a evita traumatizarea lor etc. Se recomandă ca, în camera de lucru, lumina să aibă o intensitate mai mică astfel încât ecranul ecografului să ofere un maxim de calitate în ceea ce privește contrastul, luminozitatea etc. De asemenea, aparatul propriu-zis trebuie să fie anterior reglat pentru sesiunea de lucru.

CONTRIBUȚII PERSONALE

În România, interesul în continuă creștere, manifestat de sectorul investițional, pentru acvacultura sistemelor de producție moderne și tehnologiile de creștere intensivă a peștilor este justificat de o multitudine de argumente, între care cele mai importante sunt:

- ◆ sistemele de creștere intensivă oferă posibilitatea obținerii unor producții ridicate pe unitatea de suprafață și de volum;
- ◆ gradul ridicat de automatizare a proceselor oferă avantajul flexibilității managementului tehnologic;
- ◆ sturionicultura reprezintă practic cea mai profitabilă ramură a acvaculturii având în vedere faptul că, pe lângă producția de carne se obține și caviar.

Rezultatele obținute în cadrul experimentărilor abordate reprezintă argumente solide pentru că toți cei interesați să investească în sturionicultura, datele puse la dispoziție reprezentând o bază de cunoaștere și aprofundare a aspectelor legate de managementul și operarea sistemelor de producție intensivă (sisteme recirculante și viviere flotabile) precum și a tehnologiilor de reproducere și creștere a nisetrului.

În cele ce urmează, contribuțiile aduse la dezvoltarea sectorului de acvacultură din România sunt exprimate sintetic și constau în:

- ✓ Proiectarea și punerea în funcțiune, în anul 2003, a primei investiții private constând în amenajarea stației de reproducere artificială, predezvoltare și creștere intensivă a sturionilor, amplasată la Isaccea în Județul Tulcea, inspirată după modelul celei de la Woellershof/Bavaria Superioară/Germania. Stația de reproducere, predezvoltare și creștere a sturionilor de la Isaccea, a reprezentat pentru România, prima investiție privată în domeniul reproducerii și creșterii sturionilor de Dunăre.
- ✓ Elaborarea și implementarea tehnologiei de reproducere, alevinaj și creștere a sturionilor în condițiile climaterice din România a speciilor de sturioni de Dunăre - Delta Dunării în amplasamentul stației: Isaccea, Dunăre, Mm 53.
- ✓ Realizarea primei reproduceri artificiale a morunului de Dunăre, în anul 2004, în Stația de reproducere de la Isaccea, aceasta reproducere fiind o premieră pentru sturionicultura din România.
- ✓ Reproducerea morunului de Dunăre, aprilie 2004 - a fost urmată de predezvoltarea, adaptarea la hrana uscată și creșterea în regim intensiv a unui lot care în prezent a ajuns la vârsta de 7 ani și patru luni și la o greutate medie de 26,8 kg
- ✓ Realizarea cu succes a primei reproduceri artificiale, în mediul privat, la specia A.

guldenstaedti în luna mai 2004 - urmată de dezvoltarea larvară, adaptarea la hrană uscată și creșterea în regim intensiv a unui lot care în prezent a ajuns la vârsta de 7 ani și patru luni și la o greutate medie de 11,8 kg cu masculi apți pentru reproducere și femele având

gonadele în stadiul de dezvoltare III și IV A (Foto 56).

- ✓ Realizarea în fiecare an începând cu anul 2004 a mai multor serii de reproduceri artificiale; la speciile de sturioni de Dunăre.
- ✓ Obținerea prin reproducere artificială a unui lot de hibridi de Bester în anul 2006, dezvoltarea larvară și creșterea unui lot care în prezent are vârsta de cinci ani și patru luni și o greutate medie de 6,2 kg.
- ✓ Participarea, alături de Instituții de cercetare, în cadrul unor consorții, începând cu anul 2005, la proiecte de cercetare cu teme legate de cunoașterea și perfecționarea tehnologiilor de reproducere și creștere a sturionilor în acvacultură dar și teme legate de migrație, reproducere naturală și protecția acestor specii în mediul sălbatic.
- ✓ Implementarea cu succes în anul 2005 a proiectului de creștere a sturionilor de Dunăre în cuști flotabile amplasate în lacul de acumulare Horia județul Tulcea.
- ✓ Proiectarea, în anul 2006, și implementarea în anii 2007 – 2008 a proiectului: "Ferma piscicolă Horia" constând într-o hală de 480 m.p. dotată cu echipamente speciale pentru creșterea intensivă a sturionilor și salmonidelor, heleștee mici izolate cu folie EPDM, pentru creșterea sturionilor și salmonidelor începând cu anul doi de viață.
- ✓ Realizarea împreună cu partenerii din cadrul proiectului de cercetare "STURDUN" a experimentelor de investigare prin ecografieri în vederea stabilirii sexului și/sau a gradului de maturare a sturionilor în ferme de acvacultura utilizând ecograful portabil marca „Veterinary Palm Smart B Ultrasound Scanner Wed-3000V”. Acest lucru permite stocarea imaginilor și odată cu marcarea exemplarelor scanate se pot face comparații în ceea ce privește evoluția dezvoltării ulterioare a gonadelor. În acest mod, după sistematizarea și procesarea imaginilor obținute, se obține o bază de date extrem de utilă.
- ✓ Atestarea, ca unitate de cercetare, din anul 2007, a instituției private Kaviar House București Filiala Tulcea SRL, subsamnată având calitatea de manager și asociat al acesteia.
- ✓ Producerea a mai multor serii de pui de sturioni, din speciile identificate a fi deficitare în Dunăre, în colaborare și sub supravegherea Autorității Științifice CITES pentru România și cu respectarea cerințelor științifice impuse de actele normative în vigoare în special în ceea ce privește protejarea speciilor pure și stimularea diversității genetice.
- ✓ Reproducerea, în anul 2007 a unui lot de păstruga 9 masculi x 6 femele, cu obținerea a 54 loturi de păstruga cu o bogată diversitate genetică;
- ✓ Reproducerea tot în anul 2007 a unui lot de moruni format din șapte exemplare, două

femele și cinci masculi, cu obținerea și creșterea unui număr de zece loturi de descendenți.

- ✓ Participarea prin intermediul firmei proprii, Kaviar House București Filiala Tulcea SRL, la acțiuni de cercetare, finalizate cu acțiuni de populare a Dunării cu puiet de morun, nisetru și păstruga;
- ✓ Realizarea și a altor serii de reproducere la morun și la păstrugă, utilizând un număr mare de reproducători și realizând un număr maxim de combinații a acestora cu scopul obținerii unei bogate diversități genetice.
- ✓ Realizarea de experimente de crioconservare a spermei la sturioni, în stația de reproducere Isaccea
- ✓ Testarea atingerii stadiului de maturitate sexuală a nisetrilor de acvacultură, în vârstă de patru ani, prin recoltarea spermei de la exemplare de nisetru a căror maturare sexuală a fost indusă prin injectarea de Neristină 5A urmată de prelevarea spermei și investigarea microscopică a calității acestora .
- ✓ Testarea prin diferite metode, incluzând ultrasonografia, a evoluției gradului de maturare a gonadelor femelelor de sturioni de acvacultură din diferite specii.
- ✓ Realizarea cu succes în mai 2011 a primei reproduceri la păstrugă, utilizând reproducători din producția proprie de acvacultură.

Participare la activitățile de cercetare în cadrul proiectelor științifice:

- "Parteneriat științific și tehnologic pentru promovarea managementului durabil al pescăriilor marine romanești bazat pe abordarea ecosistemica" - proiectul numărul 69 din lista proiectelor finanțate la ceex modulului competiția iunie 2005;

- "Studii pentru producerea de rețete furajere pentru acvacultura în vederea rentabilizării zonei sectorului piscico" Proiect Sectorial 7.1.3 Perioada de derulare: 08 decembrie 2006 – 30 noiembrie 2010 Obiectivul proiectului: Proiectul își propune elaborarea de rețete furajere pentru speciile de pești vizate în proiect (crap, sturioni), adaptate cerințelor acestora, stabilirea unor tehnici de hrănire a speciilor de pești vizate, în funcție de sistemele de creștere practicate;

- "Conservarea și utilizarea durabilă a sturionilor din Dunărea inferioară" – acronim Sturdun CEEX BIOTECH Stadiu: în derulare (2006-2008) Obiectiv general BCUM-BM: Studiul diversității genetice la sturioni din țara noastră. Parteneri: Universitatea Dunărea de Jos din Galați, Responsabil proiect Prof. Dr. Ing. Victor Cristea *Universitatea din București, BCUM-BM, Responsabil proiect Prof. Dr. Marieta Costache* SC. Kaviar House, Filiala Tulcea SRL, Responsabil proiect Ec. R. E. I. Marilena Maereanu.

BIBLIOGRAFIE

1. Alfredo F. Ojanguren, Felipe G. Reyes-Gavilán and Rolando Rodríguez Muñoz, Aquaculture International, Effects of Temperature on Growth and Efficiency of Yolk Utilisation in Eggs and Pre-feeding Larval Stages of Atlantic Salmon, Volume 7, Number 2, p.81-87
2. Antipa Gr., 1909, Fauna ihtiologică a României, București, Acad. Rom. Publ. Fond. Adamachi, 294, p. 31
3. Antoniu-Murgoci, 1942, Contributions a l'etude des Acipenserides de Roumanie, Ann. Sc. Univ Jassy, 26,2, p.1-99
4. Apfel R.E., Holland K.H. 1991. Gauging the likelihood of cavitation from short pulse low duty cycle diagnostic ultrasound. *Ultrasound Med & Biol*; 17:179-185.
5. Arefjev V.A. 1989. Karyotype variability in successive generations after hybridization between the great sturgeon, *Huso huso* (L.), and the sterlet, *Acipenser ruthenus* L. *J. Fish. Biol.* 35: 819 – 828
6. Arefjev, V.A. 1983. Polykaryogram analysis of ship, *Acipenser nudiventris* Lovetsky (*Acipenseridae*, *Chondrostei*). *Vopr. Ichthyol.* 23: 209 – 216
7. Arefjev, V.A., Nikolaev, A. I. 1991, Cytological analysis of the reciprocal hybrids between low- and high- chromosome acipenserids, the great sturgeon, *Huso huso* (L.), and the Russian Sturgeon, *Acipenser guldenstaedtii* Brandt. *Cytologia* 56: 495 - 502
8. Artyukhin E.N., 1995, Contributions on Biogeography and Relationships within the Genus *Acipenser*
9. Auer N.A., 1996, Importance of habitat and migration to sturgeons with emphasis on lake sturgeon, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53 (Suppl.1): 152-160
10. Avshalom Hurvitz a,b, Karen Jackson b,c, Gad Degani b,c, Berta Levavi-Sivan a 2007 Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser guldenstaedtii*) grown in aquaculture, *Aquaculture* 270 (2007) 158–166
11. Axelrod H.R., Burgess W.E., Pronek N., Axelrod G.S., Boruchowitz D.E., 2004, *Aquarium Fishes of The world*, TFH Publication
12. Bacalbașa-Dobrovici N., 1995, Prioritatea cercetărilor pentru salvarea și / sau păstrarea speciilor de pești migratori, *Simp. Intern. Acvacultura și Pescuitul*, Galați p.13-16
13. Bacalbașa-Dobrovici, 1997, Endangered migratory sturgeons of the lower Danube River and its delta. *Environmental Biology of Fishes* 48:201-207.
14. Băcescu M., Dumitrescu H., 1958, Les lagunes en formation aux embouchures du Danube et leur importance pour les poissons migrants, *Verh. Int. Ver. Limnol.*, vol.13, p. 699-709

15. Balfour Hopher, 1988, Nutrition of Pond Fishes by Balfour Hopher (Hardcover) Publisher: Cambridge Univ Pr
16. Bănărescu P., 1964, Fauna R.P.R.Vol. XIII. Pisces-Osteichthyes Ed. Academiei R.P.R., București
17. Barannikova, I.A., Burtsev, I.A., Vlasenko, A.D. Gershanovich, A.D., Markarov, E.V. Chebanov, M.S., 1995, Sturgeon Fisheries in Russia. Proceedings of the Second International Symposium on Sturgeons, September 6-11, 1993., Kostroma-Moscow. VNIRO Publications. Pp. 124-130.
18. Bemis W.E., Findeis E.K., Grande L., 1997, An overview of Acipenseriformes. Environ. Biol.Fish. 48:25-71.
19. Bemis W.E., Kynard B., 1997, Sturgeon rivers: an introduction to sturgeon biogeography and life history. Envir Biol. Fish 48: p. 167-183
20. Bénédicte Ogier de Baulny (°), Marc Suquet (°) and Gérard Maise * 1996 Short-term storage and cryopreservation of turbot (*Scophthalmus maximus*) sperm.
21. Berg L., 1953, Iarovie izozimie ras̄ u prohodn̄h r̄ab. Ocr̄ki po ob̄scim voprosam ihtologii, Izd A.N. SSSR, p.242-261
22. Berg, L.S., 1962. Freshwater fishes of the U.S.S.R. and adjacent countries. Israel Program for Scientific Translations Ltd, Jerusalem. Volume 1, 4th edition. Russian version published 1948
23. Bergler H., 2005, 2006 – comunicare personală.
24. Billard R., Cosson J. Noveiri S. B., Pourkazemi M. 2004. Cryopreservation and short-term storage of sturgeon sperm, a review . Aquaculture, 236 /1-4: 1-9
25. Billard R. 1995, Elements sur la biologie des esturgeons. La peche maritime, 1/2 33-47
26. Binkovski F.P., Doroshov S.I., 1985, Preface in: Binkovski F.P., Doroshov S.I. (Eds), North American Sturgeons: Biology and Aquaculture Potential. Dr.W. Junk Publishers, pp. 7-8
27. Birstein V.J, Bemis, Waldman W.E., Waldman J.R., 1997, The threatened status of acipenseriform species: a summary. Environm. Biol. Fish. 48:427-435
28. Birstein V.J., Bauer A. Kaiser-Pohlmann A., 1997, Sturgeon Stocks and Caviar Trade Workshop. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. Pp. 35-43
29. Birstein V.J., V. P. Vasiliev. 1987. Tetraploid-octoploid relationships and karyological evolution in the order Acipenseriformes (Pisces). Karyotypes, nucleoli, and nucleolus-organiser regions in four acipenserid species. Genetica 72: 3 –12
30. Birstein, V.J., 1993, Sturgeon and Paddlefishes: threatened fish in need of conservation. Cons. Biol. 7(4):773-787.

31. Blaxter, J. H. S., and Hempel, G. 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer, 28: 211-240.
32. Bogoescu C., Dabija A., Sanielevici E., 1983, Atlas Zoologic, Ed. Didactică și Pedagogică, București
33. Bohl M., 1999, Zucht und produktion von süsswasser fischen, Verlags union Agrar Munchen , 720 pag.
34. Boyd Kynard, Igor Liska, Dumitru Maereanu, Marilena Maereanu, Snezana Mancic, Juraj Masar, Didier Morea Action Plan for the Conservation of sturgeons (Acipenseridae) in the Danube River Basin; (Nature and Environment No 144 / Council of Europe Publishing / 2007);
35. Breck James E., Chmielewski Elizabeth Hay, 2004, Pond rearing of juvenile lake sturgeon, Raport la grant F-80-R-5, Study 230682, Michigan
36. Brown G.G. and S.D.Mims, 1995 Storage ,transportation , and fertility of undiluted padlefish milt. Progressive Fish - Culturist 57:64-69
37. Bud I., 2001, Peștii și tainele umbrelor subacvatice, Ed. Ceres, București
38. Buddington R. K., Christofferson J. P., 1985, Digestive and feeding characteristics of the chondrosteans. In North American sturgeons: biology and aquaculture potential, Drw. Junk Publishers, Dordrecht, Olanda
39. Bura M., 2006, Zoologia vertebratelor, Partea I, Ed. Agroprint, Timișoara
40. Bura M., 2007, Cega (*Acipenser ruthenus*, Linne 1758), Revista Somnul, nr.9, p. 14-15
41. Bura M., 2008, Manual de prezentare și utilizare a tehnologiei de creștere a sturionilor în sistem superintensiv cu apă recirculată, Ed. Eurobit, Timișoara
42. Bura M., Grozea A., 1997, Îndrumător de lucrări practice la Acvacultură, Fac. de Zoot. Și Biot., Timișoara
43. Burtsev I.A., 1997, Sturgeon stocks and caviar trade Workshop IUCN Gland, Switzerland and Cambridge UK
44. Burtsev I.A., 1999, The history of global sturgeon aquaculture, J. Appl. Ichthyol. 15, 325
45. Caloianu-lordachel, M. 1971. Contributions to the study of the sexual cycle and the development of gonads in males of the sterlet (*Acipenser ruthenus* L.). Stud. cercet. Pisces Inst. cercet. proiect. liment., 4: 299-309.
46. Caloianu-lordachel, M. 1971. Ovogenesis in Acipenseridae fish - the morphogenesis and histochemical composition of the external membranes. Rev. Roum. Biol. Ser. Zool., 16: 113-120.

47. Caloianu-Iordachel, M. 1973. A peculiar formation observed in the cytoplasm of a sturgeon oocyte. Stud. cercet. Biol. Ser. Zool., 25: 127-130.
48. Cărăușu S., 1952, Tratat de Ichtologie, Ed. Acad. R.P.Române, București
49. Carstensen EL, Child SZ, Norton S, Nyborg W (1990) Ultrasonic heating of the skull. J
50. Ceuca T., Valenciuc N., Popescu Alexandrina, 1983, Zoologia vertebratelor, Ed. Didactică și Pedagogică, București
51. Chepurnova L.V., 1991, Zakonomernosti Funktsii Gonad, Razmnozhentia I Sostoiania Populiatsii Ryb Basseina Dnestra v Usloviah Hidrotritel'stva., Shtiintsa Publ. House, Kishinev Pp. 164.
52. Cherr G.N., Wallis H.C.Jr, 1982, Fine structure of envelope and micropyles in the eggs of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, Development Growth&Differentiation 24 (4), 341-352
53. Chicca, M., Suciuc R., Ene, C., Lanfredi, M., Congiu, L., Leis, M., Tagliavini, J., Rossi, R., Fontana, F. 2002. Karyotype characterization of the stellate sturgeon, *Acipenser stellatus* by chromosome banding and fluorescent in situ hybridization. J. Appl. Ichthyol. 18: 298 – 300
54. Ciolac A., Patriche N., 2004, Biological aspects of main marine migratory sturgeons in romanian Danube river. Migration of fishes in romanian danube river, nr.4, Applied ecology and environmental research 3 (2)p 101-106, Budapest
55. CITES, 2000, Implementation of Resolution Conf. 8.9 (Rev.) ACIPENSERIFORMES, TRAFFIC in coop. With IUCN,
56. Coad B., 2005, Freshwater fishes of Iran, Species Accounts – Acipenseridae – Caviar - www.briancoad.com/Species%20Accounts/Acipenseridae-Caviar.htm, accesat mai, 2005
57. Conte F, Doroshov SI, Lutes B, Strange EM. 1988. Hatchery manual for the white sturgeon with application to other north American *Acipenseridae.*, Department of Animal Science, University of California.
58. Craig M. Jaquelin, 2005, Plasma levels of estradiol, testosterone and vitellogenin in lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) to determine their sex ratio in the St. Claire River, Great Lakes Science center, Alpena
59. Cristea V., Grecu Iulia, Ceapă C., 2002, Ingineria sistemelor recirculante din acvacultură; Ed. Didactică și Pedagogică R.A, București, 343 pag
60. Cristina Garlea , Maoreanu Marilena , Maoreanu Dumitru , Carolyne Knight, Ioana C. Garlea; Studii privind gestionarea durabila a fondului piscicol (Academia Romana , Institutul de Economie Agrara – "Convergenta Economica Europeana a Sectorului Agroalimentar si a Spatiului Rural Romanesc" ianuarie 2010

61. Cuisset, B. 1993. Etude endocrinologique de la fonction de reproduction chez l'esturgeon siberien *Acipenser baeri* Brandt: application au sexage des populations sauvages ou élevés en acipensericulture. Thèse 1039. Université Bordeaux I. France: 215 pp.
62. D. Memiş, E. Ercan, M.S. Çelikkale, M. Timur, Z. Zarkua -(2009) Growth and Survival Rate of Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) Larvae from Fertilized Eggs to Artificial Feeding - Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 9: 47-52
63. D.R.Koss, N.R.Bromage 1990 Influence of the timing of initial feeding on the survival and growth of hatchery-reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Aquaculture Volume 89, Issue 2, Pages 149-163;
64. Dabrowski, K., Kaushik, S.J. and Fauconneau, B. 1985. Rearing of sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) larvae. I. Feeding trial. Aquaculture, 47: 185-192.
65. Dadswell M.J., 1979, Biology and population characteristics of the shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, in the Saint John River estuary, Can. J. Zool. 57: 2186-2210, New Brunswick, Canada
Danube Delta National Institute, Romania**Kaviar House, Romania
66. De Meulenaer, T. and Raymakers, C., 1996, Sturgeons of the Caspian Sea and the international trade in caviar. TRAFFIC International, iv+71 Pp
67. Dediu L., Cristea V., Docan A., Grecu I., Maereanu M., Preliminary results regarding growth performances of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) in a biosecure recirculating aquaculture system' submitted for publication in JEPE.
68. Dettlaff T.A., Davydova S.I. 1981, Differential sensitivity of the follicular epithelium cells and oocytes of *Acipenser stellatus* to unfavorable conditions and the correcting effect of triiodothyronine. In: Mitskevich MS (ed) Mechanisms of hormonal regulations and the role of feedback in development and homeostasis. Nauka, Moscow.
69. Dettlaff T.A., Ginsburg A.S., Schmalhausen O.I., 1993, Sturgeon Fishes. Developmental Biology and aquaculture. Springer Verlag, Berlin
70. DiLauro MN, Krise WF, Hendrix MA and Baker SE (1994) Short-term storage of Atlantic sturgeon sperm The Progressive Fish-culturist 56 143-144
71. Dimitriu M., 1935, Observațiuni asupra migrației sturionilor. Rev. Zootehnică2, p.11-12
72. Dziuba, J., Minkiewicz, P., Nałęcz, D. & Iwaniak, A. (1999): Database of biologically active peptide sequences. *Nahrung/Food*, 43, 190-195.
73. Edwards D., Doroshov, S., 1989, Appraisal of the Sturgeon and Seatrout Fisheries and Proposals for a Rehabilitation Programme. FAO Field Doc. FI.TCP/TUR/8853. Pp. 38;
74. Eukarya – Enciclopedia Faunei și Florei din România, www.Eukarya.ro, accesat mai 2005

75. Feider Z., Grossu A., Gyurko Șt., Pop V., 1964, Zoologia vertebratelor, Ed. Didactică și pedagogică, București
76. Feider Z., Gyurko Șt., Grossu A., Pop V., 1976, Zoologia vertebratelor, Ed. Didactică și Pedagogică. București
77. Findeis E.K., 1997, Osteology and phylogenetic interrelationships of sturgeons (Acipenseridae) *Envir. Biol. Fish.* 48: p. 73-126
78. Fontana F. 1994. Chromosomal nucleolar organiser regions in four sturgeon species as markers of karyotype evolution in Acipenseriformes (Pisces). *Genome* 37: 888 – 892
79. Fontana F. and G. Colombo. 1974. The Chromosomes of Italian Sturgeons. *Experientia* 30: 739 – 742
80. Fontana F., D. Jankovic & S. Zivkovic. 1975. Somatic chromosomes of *Acipenser ruthenus* L. *Arh. biol. nauka* 27: 33-35.
81. Fontana F., M. Lanfredi, R. Rossi. 1996. Karyotypic characterisation of *Acipenser guldenstaedti* with C-, AgNO₃, and fluorescence banding techniques. *Ital. J. Zool.* 63: 113 – 118
82. Fontana, F., Lanfredi, M., Chicca, M., Congiu, L., Tagliavini, J., Rossi, R. 1999. Fluorescent in situ hybridization with rDNA probes on chromosomes of *Acipenser ruthenus* and *A. naccarii* (Osteichthyes Acipenseriformes). *Genome* 42: 1008 – 1012
- Fontana, F., Lanfredi, M., Rossi, R., Bronzi, P., Arlati, G. 1995. Established cell lines from three sturgeon species. *Sturg. Quart.* 3: 6 – 7
83. Fontana, F., Rossi, R., Lanfredi, M., Arlati, G., Bronzi, P. 1997. Cytogenetic characterization of cell lines from three sturgeon species. *Caryologia* 50: 91 – 95
84. Fontana, F., Tagliavini, J., Congiu, L., Lanfredi, M., Chicca, M., Laurenti, C., Rossi, R. 1998. Karyotypic characterization of the great sturgeon, *Huso huso*, by multiple staining techniques and fluorescent in situ hybridization. *Mar. Biol.* 132: 495 – 501
85. Forsythe P.S., Scribner K.T., Bott K., Baker E., 2004, Fertilization success, egg predation, deposition and post emergent survival in the lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*): the relative importance of potential barriers to recruitment, CCFRR/SCL : Abstracts of Oral Presentations
86. Gallis et al, 1991. Spermatoza motility in the Persian sturgeon, *Acipenser persicus*: effects of pH, dilution rate, ions and osmolality In *Acipenser* pp. 143-151 ;Ed Patric Willot Bordeaux Cemagref Franta
87. Gamberini A., 1998, Zootecnia alternativa, Ed. Agricole della Calderini, Bologna
88. Gardiner BG. 1984. Sturgeons as living fossils. In: Eldredge N, Stanley SM, editors. Living fossils. New York: Springer. p 148

89. Gershanovich, A.D.; Taufik, L.R., 1992: Feeding dynamics of sturgeon fingerlings (*Acipenseridae*) depending on food concentration and stocking density. *Journal of Fish Biology* 41, 425- 453.
90. Gherbilski N.L., 1962, Elementă teorii i biotehniki upravlenia arealom osetrovih. Tr. Osetrovie SSSR i ih vosproizvodstvo TNIORH, 1 Moskva, p.11-22
91. Gisbert, E. and Williot, P. 1997. Larval behaviour and effect of the timing of initial feeding on growth and survival of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae under small scale hatchery production. *Aquaculture*, 156: 63-76
92. Godeanu S.P., 2002, Determinatorul ilustrat al florei și faunei României, Ed. Bucura Mond, București
93. Gregory W.K., 1933, Fish Skulls: A Study of the Evoltion of Natural Mechanism, Trans. Amer. Phil. Soc., 23, p.75-481
94. Grozea A., 2002, Acvacultură – curs, Ed. Excelsior Art, Timișoara
95. Heming TA, McInerney JE, Alderdice DF. 1982. Effect of temperature on initial feeding in alevins of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Can J Fish Aqua Sci* 39: 1154-1162.
96. Hensel K., Holèik J., 1997, Past and current status of sturgeon in the upper and middle Danube. Academic Publications, Dordrecht. Pp. 185-200
97. Hochleithner M., Gessner J, 1999 The Sturgeon and Paddlefishes (*Acipenseriformes*) of the World: Biology and Aquaculture. AquaTech Publications, Kitzbuhl. Pp. 165
98. Holèik J., 1995, 4.druh Acipenser (*Acipenser*) guldenstaedti Brandt, 1833. Academia, Praha. Pp.391-397.
99. Holmes J. A. S., 2001, Develop artificial propagation tehniques and protocols in preparation for supplementation selected white sturgeon populatons, Annual Progress Report, 130-139.
100. Horvath, A., Urbanyi, B. 2000. Cryopreservation of sterlet (*Acipenser ruthenus*) sperm. Proc. 6th Internat. Symp. Reprod. Physiol Fish, Bergen, 441p
101. Hung S. S. O. și colab., 1995, Optimum feeding rate of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) yearlings under commercial production conditions, *Journal of Applied Aquaculture* 5, 297-303
102. Hung S. S. O. și colab., 1997, High energy diets for white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) Richardson, *AquacultureNutrition* 3 , 281-286
103. Hung S. S. O. și colab., 2002, Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture, CAB InternationalPublishing , 344-357
104. Iakovleva, 1952; Cytochemical characteristic of regenerating cell. *Dolk Akad Nauk SSSR*14926604

105. Iani M.*, Suci R.*, Paraschiv M.*, Maoreanu M., Use Of Electro – Narcosis in Sturgeon Aquaculture in Romania ** *Danube Delta National Institute, Romania **Kaviar House,
106. Internationa Symposium of Sturgeon, Ramsar, Iran: 16p
107. Iucn., 1996, Red List Of Threatened Animals. Iucn, Gland, Switzerland
108. Iucn/Scs, 2000, Red List Of Endangered Animals
109. Iulia Grecu, Victor Cristea, Lorena Sfetcu, Radu Suci, Marilena Maoreanu, Fetecau Maria, Angelica Docan, Preliminary considerations regarding sturgeons rearing in floatable cages -Analele Universitatii "Dunarea de Jos" din Galati, Fascicula VII,
110. Ivo Labbé , Gregory Rudnick , Marijn Franx ,Emanuele Daddi , Pieter G.van Dokkum ,Natascha M.Förster Schreiber , Konrad Kuijken , Alan Moorwood , Hans-Walter Rix , Huub Röttgering, Ignacio Trujillo, Arjen van der Wel, Paul van der Werf, Lottie van Starckenburg: 1998 Large Disklike Galaxies at High Redshift The Astrophysical Journal, 591:L95-L98.
111. J. F. Chen, J. A. Zagzebski and E. L. Madsen. 1994, Non-gaussian vs. Non-rayleigh Statistical Properties of Ultrasound Echo Signals. IEEE Transactions of Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, 41, 435-449
112. Jankovic D., 1993, Populations of Acipenseridae prior and after the construction of the HEPS Djerdap I and II. Acta Biologica Iugoslavica, Seria E. Ichthyologia 25:29-34
113. Jobling, M.; Arnesen, A.M.; Baardvik, B.M.; Christiansen, J.S.; Jorgensen, E.H., 1995: Monitoring feeding behavior and food intake: Methods and applications. Aquaculture Nutrition 1, 131-143.
114. Kamler, E. 1992. Early life history of fish: an energetics approach. Chapman & Hall, London. Kamler E. 1992. Early Life History of Fish. Chapman and Hall, London, 416 pp.
115. Karapetkova M, Zhivkov M., Pchelarov T., 1995, Ribite v B'lgariya. Geya Libris, Sofia. Pp. 247
116. Kaszoni Z, 1976, Acvariu, Ed. Sport-Turism, București
117. Kaszoni Z., 1981, Pescuitul Sportiv, Ed. Sport-Turism, București
118. Kaushik S. J și colab., 1991, Requirement for protein and essential amino acids and their utilization by siberian sturgeon (*Acipenser baeri*), Proceeding of the first International Symposium on the Sturgeon, France, pp 25-39
119. Khodorevskaya R.P., Dovgopol G.F., Zhuraleva O.L., Vlasenko, A.D., 1997, Present status of commercial stocks of sturgeons in the Caspian Sea Basin. Kluwer Academic Publications, Dordrecht. Pp. 209-219.
120. Khodorevskaya, R.P. and Novikova, A.S. (1995). Status of Beluga Sturgeon, *Huso huso*, in the Caspian Sea. J. Ichthyol. 35 (9):59-68.

121. Kiss J.B., 1997, Cartea Deltei, Ed. Fundația Aves, Odorheiul Secuiesc
122. Kopeika, E.F., Williot, P., Goncharov, B.F. 2000. Cryopreservation of Atlantic sturgeon *Acipenser sturio* L. 1758 sperm: First results and associated problems. *Bul. Inst. Esp. Oceanogr.* 16 (1-4): 167 – 173
123. Kouřil J., 2007, comunicare personală
124. Lagler K., F. Bardach J. E., Miller R. R., Passinno Dora May, 1977, *Ichthyology*, second edition, John Wiley and sons International Edition, New York
125. Laluyee F., 1996, Migration studies of sturgeons in Sefidrud, Tajen and Gorganrud River. Iranian Fisheries Research and Training Organisation Publications.
126. Laurel, 1994, Medical ultrasound safety. AIUM Publication,
127. Lebreton G.T.O., Beamish F. W. H., 2004, Growth, bioenergetic and age. In sturgeon and paddlefish of North America., Kluwer Academic Publishers., Olanda
128. Lele, Z. And Krone, P.H., 1996, - The zebrafish as a model system in developmental, toxicological and transgenic research, *Biotech. Adv.* 14:57-72
129. Lelek A., 1987, The freshwater fishes of Europe vol.9, AULA Verlag Wiesbaden: Threatened Fishes of Europe
130. Leonte, V., 1956, Contribuții la studiul biologiei sturionilor marini din apele Republicii Populare Române, *Anal. Inst. de Cercet. Piscicole* 1 (s.n.)
131. Leonte, V., 1959, Contribuții la cunoașterea răspândirii hranei și a ritmului de creștere a puietului de sturioni în Dunăre, *Bul. ICPP* 18, 4, p. 9-18
132. Levin A.V., 1997, The Distribution and Migration of Sturgeon in the Caspian Sea., IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. Pp. 13-19.
133. Liebe R, Rublee B., Sykes G., Manson Rachel, 2004, Adult White Sturgeon Monitoring – Nechako River, Triton Environmental consultants, www.triton-env.co
134. Linhardt O., J. Cosson², S. D. Mims³, W. L. Shelton⁴ and M. Rodina¹ Effects of ions on the motility of fresh and demembrated paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa . *Reproduction* (2002) 124, 713–719
135. Linhardt, O. *et al.* 2005. Sturgeon sperm cryopreservation. Workshop notes, 5th
136. Linhardt, O., Rodina, M. and Cosson, J., 2000, Cryopreservation of sperm in common carp *Cyprinus carpio*: Sperm motility and hatching success of embryos. *Cryobiology*, 41. p. 241-250.
137. Lyon W.F., 2000, Rearing earthworms, Ohio State University, Fact Sheet
138. Lyons J., Kempinger J.J., 1992, Movements of adult lake sturgeon in the Lake Winnebago system, *Wis. Dep. Nat. Res. Res. Publ. No.* RS 156-92

139. Manea G. I., 1968, Contribuții la studiul sturionilor din apele României și al reproducerii lor în legătură cu construcțiile hidrotehnice pe Dunărea Inferioară, Buletinul Inst. de Cercetări și proiectări piscicole, anul XXVII, nr. 1
140. Manea G.I., 1980, Sturionii, Biologie, Sturionicultură și Amenajări Sturionicele, Ed. Ceres București
141. Manning, CE et al., 1996: Element concentrations of amphiboles in ODP Hole 147-894G (Table 1). doi:10.1594/PANGAEA.712091, Supplement to: Manning, Craig E; Weston, Patricia E; Mahon, Keith I (1996): Rapid high-temperature metamorphism of East Pacific Rise gabbros from Hess Deep. *Earth and Planetary Science Letters*, 144(1-2), 123-132,
142. Manoleli D., Nalbant T., 1976, Viața în Marea Neagră, Ed. Științifică și Enciclopedică, București
143. Marilena Maereanu , Victor Cristea , Dumitru Maereanu ,Iulia Grecu, Simpozion B.E.N.A. 2010, Results regarding the intensive growing of *Acipenser guldenstaedti* (Brandt ,1833) juveniles., Universitatea Dunarea de Jos Galati ,Food Science and Engineering Faculty.
144. Marilena Maereanu , Victor Cristea , Iulia Grecu , Dumitru Maereanu, A - 8-a Ediție a Simpozionului de Biologie și Nutriție Animală-Balotești Septembrie 24-25 – 2009Research for sex and gonad development assessment in sturgeons (*Acipenser guldenstaedti*) by ultrasound".
145. Marilena Maereanu , Victor Cristea , Iulia Grecu , Lorena Sfetcu, 2008 - Preliminary results regarding the use of ultrasonography for gender and maturation stage determinations in sturgeons aquaculture Conferinta , INCDD Tulcea
146. Marti V,1939, Biologhiia promisei *Acipenser sturio* v Cernom more, Zool. Jurnal, 19, p.6
147. Martin, J.H., Knauer, G.A. and Gordon, R.M. (1983), Silver distribution and fluxes in the North-West Pacific waters. *Nature* 305: 306-309. Nature Publishing Group 345 Park Avenue South, 10th floor New York, NY 10010-1707 USA
148. Mason W.T. Jr., Rottman R.W., Dequine J.F., 2000,Culture of earthworms for bait or fish food, University of Florida Extension Institute of Food and Agricultural Sciences
149. Metaxa Elis, 2005, Romania prepares for accession to the EU, Eurofish Magazine 3/2005, p.54
150. Miller M.J., 2004, Sturgeons and Paddlefish of North America, Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands, p. 87-102
151. Mims S.D., Lazur A., Shelton W.L., Gomelsky B., Chapman F., 2002, Species profile Production of sturgeon, SRAC Publication no. 7200

152. Moghim, M.; Vajhi, A. R.; Veshkini, A.; Masoudifard, M. , 2002, Determination of sex and maturity in *Acipenser stellatus* by using ultrasonography. *Journal of Applied Ichthyology*, v. 18, n. 4-6, p. 325-328,
153. Mohler, J. W, 2003, Culture Manual for the atlantic sturgeon, A Region 5 US Fish& Wildlife Service publication, Hadley Massachusetts
154. Mohler, J.W. 2000. Early culture of the American Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus* Mitchell, 1815 and preliminary stocking trials. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 16(1-4): 203-208
155. Mohseni M., Pourkazemi M., Bahmani M., Falahatkar B., Pournali H. R., Salehpour M., 2006. Effects of feeding rate and frequency on growth performance of yearling great sturgeon, *Huso huso*. *J. Appl. Ichthyol.* 22 (Suppl. 1), 278-282
156. Moyle P.B., Cech J.J., 2000, *Fishes, an Introduction to Ichthyology*, Prentice Hall, 4th Edition
157. Muscalu-Nagy Cristina, Bura M., Grozea A., Dumitrescu Gabi, Muscalu-Nagy R., Conduraru Carmen, 2004, Study on the biological life cycle od *Daphnia magna* in laboratory conditions, *Lucr. st., Zoot si Bioteh.*, vol.XXXVII Timisoara
158. Muscalu-Nagy Cristina, Muscalu-Nagy R., 2005, Studiul influenței temperaturii asupra ciclului biologic al crustaceului *Daphnia magna*, Simpozion Studentesc Hunedoara
159. Muscalu-Nagy Cristina, Muscalu-Nagy R., Banatean I, Trandafir G., Grozea A., 2005, Contribuții la cunoașterea influenței luminii asupra ciclului de viață al speciei de crustaceu *Daphnia magna*, *Lucr. st., Zoot si Bioteh.*, vol.XXXVIII Timisoara
160. Niculescu-Duvăz M., 1959, *Migrațiile peștilor*, Ed. Științifică, București
161. Nikoljukin N. J., 1971, Hybridization of acipenseridae and its practical significance All Union Reseach Institute of Marine Fisheries and Oceanography, Moscova
162. Nikolsky G.V., 1963, *The ecology of fishes*, Academic Press, London
163. Norman jr., 1975, *A hystory of fishes*, Ernest Benn Limited, London
164. Nowruz Fashhkhani M.R., M. Khosroshahi. 1999. Karyotype study on stellate and great sturgeon by leukocyte culture. *J. Appl. Ichthyol.* 15: 283
165. Nowruz Fashhkhani, M. R. 1996. On the karyotypes of *Acipenser persicus*, *A. stellatus* and *Huso huso* from the Iranian waters of the Caspian Sea. *Sturg. Quart.* 4 (3): p. 7
166. O. G. Memis, A. Katsnelson and H. Mohseni, (2008). "Low Noise, High Gain Short-Wave Infrared Nano-Injection Photon Detectors with Low Jitter," IEEE Lasers and Electro-Optics Society, 21st Annual Meeting of the, 159,
167. Oprea L., Georgescu R., 2000, *Nutriția și alimentația peștilor*, Ed. Tehnică, București

168. Păcală N., Korbuly B., Dumitrescu M., 2006, Biologia reproducției peștilor., Ed. Pardon, Timișoara
169. Paraschiv M.*, Suciuc R., Iani M., Maereanu M., Coded Wire Tag Use on Young Sturgeons in Romania ,Danube Delta National Institute, Romania ,Kaviar House, Romania;
170. Park, C., Chapman, F. 2005. An extender solution for short-term storage of sturgeon semen. *North American J. of Aquaculture*, 67 : 52 – 57
171. Parker R, 2002, Aquaculture Science, Thomson Learning, Delmar
172. Patriche N., 2001, Păstruga, Biologie și Reproducere artificială Ed. Ceres, București
173. Pavlov P.I., 1980, Rib. Fauna Ukrainy. 8/1. Naukova Dumka, Kiv. Pp 336.
174. Penzlin H., 1989, *Lerbuch der Tierphysiologie*, Gustav Fischer Verlag, Jena
175. Pescuit si Acvacultura, ISSN 1453-0821;
176. Pintér K., 1991, Sturgeon in Hungary, past and present situation. In: P. Williot (Ed.)
177. Piper RG, McElwin IB, Orme LE, McCraren JP, Flower LG, Leonard JR. 1983. Fish hatchery management. Washington: U.S. Fish and Wildlife Service
178. Pojoga I., 1938, Creșterea peștilor, lucrare didactică și de propagandă, Monitorul Oficial și Imprimeriile Statului, Imprimeria Centrală, București
179. Pourkazemi M.D., Skibinski O.F., Beardmore, J.A., 1995, Population structure of Stellate Sturgeon *Acipenser stellatus* Pallas, in southern parts of the Caspian sea studied using mtDNA and allozyme analysis. Abstracts, International Conf. Sturgeon Biodiversity and Conservation, NY. *The Sturgeon Quarterly*, 3 (4):10.
180. Povž M., Sket B., 1990, Naše slatkovodne ribe. Založba Mladinska knjiga, Ljubljana. Pp. 374.
181. Ráb P. 1986. A note on the karyotype of the sterlet, *A. ruthenus* (Pisces, Acipenseridae). *Folia Zool.* 35 (1): 73 – 78
182. Ráb P., V.A. Arefjev, M. Rábova. 1996. C-banded Karyotype of the Sterlet, *Acipenser ruthenus*, from the Danube River. *The Sturg. Quart.* 4 (4):10 – 12
183. Rad. F.; Köksal. G.; Kindir. M., 2003: Growth performance and food conversion ratio of Siberian Sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) at different daily feeding rates. *Turk J. Vet Anim. Sci.* 27, 1085-1090.
184. Radu Suciuc , Marian Paraschiv , Delia Onara , Marilena Maereanu; (European congress of Ichthyology , 9 –14 sept. 2007, Dubrovnik , Croatia , Present status conservation and sustainable use of sturgeon population of the lower Danube River , Romania;
185. Radu Suciuc ,Maereanu M. Onara D., Paraschiv M., Iani M.- First result of sperms cryopreservation in sturgeons of the Lower Danube River , Romania;

186. Ramin M. 1998, Migratory studies in sturgeons and their limiting factors in the Sefidrud River. Gilan Fisheries Research Centre Publications
187. Raymakers Caroline, 2002, Study on the social and economic aspects of illegal fishing in the Caspian Sea, Traffic Europe, Brussels
188. Raymakers Caroline., 1999, Trade in Sturgeons from the Caspian Sea. In: Williamson, D.F., Benz, G.W. and Hoover, C. (eds.) Proceedings of the Symposium on the Harvest, Trade and Conservation of North American Paddlefish and Sturgeon, May 7-8, 1998,
- Razavi S.B., 1988, Analysis on great sturgeon stocks in the South Caspina Sea, Iranian Fisheries Research and Training Organisation Publications.
189. Rebreanu L., 1984, Curs de Piscicultură, Fac. De Zooteh. Și Med. Veter., Timișoara
190. Rideg Á., 2007, comunicare personală
191. Rockhoff D., 2004, Icre negre „în eprubetă” – a treia Conferință a Caviarului la Bonn, www.agero-stuttgart.de/REVISTA-AGERO/ECONOMIE/sturionul.htm
192. Rossi R., Grandi G., Trisolini P., Franzoi P., Carrieri A., Dezfuli B.S., Vecchiotti E., 1991, Osservazioni sulla biologica e la pesca dello storione cobice (*Acipenser naccarii*, Bonaparte) nelle parte terminale de fiume Po. Atti Soc.Ital.Sci.Natur.Mus.Civ.Stor. Natu. Milano, 132:121-142
193. Salinkov N.I., Maleatzkii, 1934, K sistematike belughii Azovo-Cernomorskogo basseina (Predv. Soobșcenie) Tr. Naucin. i biol. stanții Gruzii, 1
194. Segner H., Verreth J., 1995 – "Larviculture & Artemia Newsletter" - " Histological and biochemical methods in nutrition studies with fish larvae".
195. Serebryakova E. V., Arefjev, V.A., Vasiliev, V.P., Sokolov, L.I. 1983. The study of the karyotype of giant sturgeon, *Huso huso* (L.) (*Acipenseridae*, *Chondrostei*) with reference to their systematic position. In: Genetics of commerical fishes and aquaculture, Moscow, pp 63 – 69
196. Shagaeva V.G., Nikolskaya M.P., Akimova N.V. Markov K.P., Nikolskaya, N.G., 1993, A study of the early ontogeny of Volga sturgeon (*Acipenseridae*) subjected to human activity. J. Ichthyol. 33(6):23-41.
197. Shearer, K.D., 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. Aquaculture 119, 63-88.
198. Shubina T.N., Popova A.A. Vasiliev V.V., 1989, *Acipenser stellatus* Pallas, 1771 Proposal to list all *Acipenseriformes* in Appendix II. Submitted by Germany and The United States of America.

199. Simensen, L.M.; Jonassen, T.M.; Imstrand, A.K.; Stefansson, S.O., 2000: Photoperiod regulation of growth of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 191, 119-128.
200. Simonovic P.D., Nikolic V.P., 1996, Freshwater fish of Serbia: an annotated check list with some faunistic and zoogeographical considerations. *Bios* (Macedonia, Greece) 4: 137-156.
201. Singer T.D., Ballantyne J. S, 2004, Sturgeon and paddlefish metabolism., In sturgeon and paddlefish of North America., Kluwer Academic Publishers., Olanda
202. Sokolov, L.I., Vasil'ev , V. P. 1989. *Acipenser nudiventris* Lovetsky, 1928. In: Holcik J (ed) The Freshwater Fishes of Europe, vol 1, part II General Introduction to Fishes Acipenseriformes, AULA – Verlag Wiesbaden, pp 206 – 226
203. Stăncioiu S., 1976, Curs de ihtiologie generală, Universitatea din Galați, Galați
204. Stanciu M., 1979, Creșterea peștilor de acvariu, Complexul muzeal de Științe ale Naturii, Constanța
205. Suci R. Ene F., Bacalbasa-Dobrovici, N., 1998, New data on the distribution of sturgeon in the Lower Danube River. *Aquarium* 1998, Galați, Romania. University "Dunarea de Jos".
206. Suci R., Bacalbașa Dobrovici N, Ene C., Ene F., 1995, Plan de redresare a populațiilor de sturioni marini în Dunăre. Simpozion Internațional Acvacultura și pescuitul Galați. p.133-137
207. Suci R., C. Ene. 1996. Karyological study of the stellate sturgeon, *Acipenser stellatus*, from the Danube River. *The Sturg. Quart.* 4 (3): 14 – 15
208. Suci, R., Ene, C. - 1998 - A note on the karyotype of the sterlet, *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 (Pisces, Acipenseridae) from the romanian stretch of Danube River. *Aquarom* 98/Galați: 318-321
209. Talpes Marilena - 1998 Galați " Studii si cercetari privind reproducerea si dezvoltarea postembrionara la specia *Acipenser Guldenstaedti*" ing. Marilena Talpes ,
210. Tania Zaharia si Marilena Maereanu, 2006 - Evaluating the cultivation potential of the beluga *Huso huso* (L) on the Romanian littoral, AQUA 2006, Linking Tradition & Technology – Highest Quality for the Consumer, May 9-13, 2006, Firenze (Italy), Abstracts, WAS&EAS: 940;
211. Toth GP, Ciereszko A, Christ SA & Dabrowski K 1997 Objective analysis of sperm motility in the Lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*): Activation and inhibition conditions. *Aquaculture* 154 337–348.
212. Tsvetkova R Billard J Cosson^b, S.B Noveiri^c, M Pourkazemi^c 1996 ryopreservation of finfish and shellfish gametes and embryos *Aquaculture*, Volume 197, Issues 1-4, 1 June 2001, Pages 161-189 Nai-Hsien Chao, I.Chiu Liao

213. Twonge TK, MacCrimmon HR. 1976. Significance of the timing of initial feeding in hatchery rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Fish Res Board Can 33(9): 1914-1921.
214. Urbányi, B., Horváth, Á., Kovács, B. 2004. Successful Hybridization of Acipenser Species Using Cryopreserved Sperm. Aquaculture International, Volume 12, Number 1 :47 – 56
215. US Department of Homeland Security, 2004, What every member of the trade community should know about: Caviar. US Customs and Border Protection
216. Vasilescu D., David D., 1995, Redresarea populațiilor de sturioni anadromi în Dunăre prin populări cu puieț produs în amenajări sturionice, Simpozion Internațional Acvacultura și Pescuitul Galați, p. 13-16
217. Vasiliev V.P. 1985. Evoluzionnaja kariologiya ryb. Nauka, Moscow, 300 p
218. Vedralshko A., Lobchenko V., Pirtsu I., 1998, Problemele Conservării Biodiversității din Cursul Medial și Inferior al Fluviului Nistru. Abstr. Int. Conf. Chisinau, 6-7 Nov. 1998. Chisinau, BIOTICA Publ., 1998. Pp. 35-36.
219. Vlasenko A.D., 1990, Sturgeon Population Size in the Caspian Sea. Rybnoe Khozyaistvo, 7:53-56.
220. Vlasenko A.D., Pavlov A.V., Sokolov L.I., Vasiliev, V.P., 1989, Acipenser gueldenstaedti Brandt, 1833, Document Doc. 10.89; Prop. 10.65. 1997. Proposal to list all Acipenseriformes in Appendix II. Submitted by Germany and The United States of America. Pp. 295-344.
221. Volovik S.P., Dubinina V.A., Semenova, A.D., 1993, Hydrobiology and dynamics of fisheries in the Asov Sea. Studies and reviews. General Fisheries Council for the Mediterranean. No. 64. FAO, Rome. Pp. 1-58.
222. Webster C. D., Lim C, 2002, Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture, CAB International Publishing ,
223. Wildhaber L. și colab., 2006, Development of methods to determine the reproductive stathus of Pallid Sturgeon in the Missouri River, Science for a changing world, Missouri
224. Williot P., Sabeau L., Gessner J., 2001, Sturgeon farming in Western Europe: recent developments and perspectives, Aquat. Living Resour. 14 (2001), 367-374
225. Williot, P., Bourguignon, G., 1991, Sturgeon and caviar production, current status and perspectives. In: Williot, P. (ed.), Acipenser, Cemagref Publications, Pp. 509-51
226. Zarkua Z., Tsuladze, V., 1999, Initiative needed to boost sturgeon numbers. Eurofish 3/99:40-41
227. www.agriculturaromaniei.ro
228. www.dec.State.ny.us.com

229. <http://www.itis.gov> [details] - *Daphnia* O.F. Müller, 1785 AphiaID: 148370
230. (Publicatia ITIS 2007, date dupa Muller,1774)
231. www.fao.org/figis/servelet/species?fid=2072, accesat iulie, 2005
232. www.fao.org/figis/servelet/species?fid=2072, Species Fact Sheet, *Huso huso*, accesat februarie, 2005
233. www.Fishbase.org, accesat ianuarie-iunie 2005
234. www.Hotnews.ro, accesat ianuarie 2005
235. www.kryn.sarov.info/fishing
236. www.nvogue.com/nVogueFoods/Caviar/caviarguide.html
237. www.sturio.com/cites/FAO
238. www.tuinfo.nl
239. www.ulb.ac.be/sciences/biodic/histofish/, Danguy A.,Genten Fr.,Histofish, accesat iunie, 2005
240. ***, 1982, North American Wildlife, an illustrated guide to 2000 plants and animals, Reader's Digest, Pleasantville
241. ***, 1997, Document Doc. 10.89; Prop. 10.65. Proposal to list all Acipenseriformes in Appendix II. Submitted by Germany and The United States of America.
242. ***, 1998, Sturgeon catch and trade in the Russian part of the Caspian Sea. TRAFFIC Europe-Russia, Field investigations. Unpublished report, pp. 21.
243. ***, 2000, Estimation of the Sturgeon Stocks in the Russian Federation and Monitoring of Domestic Trade in Sturgeon Products. TRAFFIC Europe-Russia, Field investigations. Unpublished report, Pp.23.
244. ***, 2000, <http://www.cites.org/eng/dbase/fauna>
245. ***, 2000, Sturgeon fisheries management and trade control measures in the Caspian Sea and Black Sea/ Sea of Azov range States. TRAFFIC Europe field investigations, December 1999-January 2000.



266.739