

Stadiul si rezultatele obtinute in Etapa III/2016

Activitatea III.1 Elaborarea tehnologiei de laborator pentru obtinerea biomasei levuriene si a oligozaharidelor

Lucrarile experimentale de laborator au urmarit obtinerea de biomasa levuriana de *Kluyveromyces marxianus* NRRLY 1195 necesara, pe de o parte incorporarii, ca atare, in aditivi furajeri si, pe de alta parte, pentru extractia oligozaharidelor cu rol prebiotic in furajarea animalelor.

S-au stabilit urmatorii parametri tehnologici: mediu de cultura (permeat de zer acid), temperatura, pH, agitare, timp.

S-au elaborat tehnologiile de laborator de obtinere a biomasei levuriene si a oligozaharidelor. Tehnologiile de laborator cuprind date referitoare la: materii prime, instalatie de laborator, mod de lucru, flux tehnologic, caracterizarea fizico-chimica a biomasei levuriene si a oligozaharidelor.

Principalele etape de obtinere a biomasei levuriene sunt: prepararea permeatului din zer acid integral; prepararea pre-inoculului; prepararea inoculului; fermentatia propriu-zisa; recoltarea biomasei levuriene; uscarea biomasei levuriene.

Tehnologia de obtinere a oligozaharidelor din peretii celulari se realizeaza in mai multe etape: liza celulelor de drojdie si separarea peretilor celulari insolubili de citoplasma; extractia β -glucanilor si a manoproteinelor din peretii celulari; deproteinizarea manoproteinelor si izolarea oligozaharidelor.

Atat biomasa levuriana cat si oligozaharidele extrase au fost utilizate in formule de aditivi furajeri pentru sanatatea si productia animalelor de ferma.

Activitatea III.2 Elaborarea tehnologiei de obtinere a chelatilor de aminoacizi

S-a urmarit imbogatirea mediilor de cultura cu microelemente (seleniu). In acest scop s-au efectuat testari privind nivelul optim de seleniu adaugat in mediul de cultura pentru a putea fi asimilat de drojdia lactica. Dozele folosite au fost cuprinse in intervalul 10-50 mg selenit de sodiu/L mediu. Rezultatele cele mai bune au fost obtinute la valoarea maxima de 50 mg selenit de sodiu/L.

Compusul obtinut are un continut minim de 15% microelement, intreaga cantitate fiind chelatata de aminoacizi sau di-/tripeptide. Produsul poate fi folosit ca aditiv furajer.

Activitatea III.3 Realizarea de amestecuri de furaje si aditivi furajeri si testarea lor in ferme SPF pe gaini crescute in izolatoare SPF si pe porumbei in conditii experimentale sau alte specii de animale in conditii de productie

Aditivii furajeri au fost testati in ferme SPF pe pui si gaini ouatoare in ceea ce priveste sporul de greutate, dupa o perioada de 50 si 80 de zile. In cadrul evolutiei greutatii corporale a pasarilor este o diferenta semnificativa statistic intre loturile experimentale, dupa perioada de 50 zile, care poate fi atribuita aditivului furajer suplimentar adaugat in furaj.

In cadrul evolutiei greutatii corporale a pasarilor nu este o diferenta semnificativa statistic intre loturile experimentale, dupa perioada de 80 zile, cu toate ca mediile greutatilor pasarilor sunt net superioare la loturile care au primit in furaje premixul respectiv. Sunt necesare cercetari suplimentare, pe un numar semnificativ mai mare de pasari pentru a putea trage o concluzie finala.

In ceea ce priveste biomasa levuriana seleniata, administrata aceleiasi categorii de pasari, s-a constatat ca prezenta seleniului este semnificativ mai mare in ouale provenite de la pasarile hranite cu premix. De asemenea, fecunditatea este influentata pozitiv.

Administrarea de OLIGOLAC ANIMAL PREMIX in hrana porumbeilor asigura valorificarea superioara a hranei, o imbunatatire a calitatii penajului si reducerea morbiditatii in cazul afectiunilor digestive, indiferent de varsta.

Referitor la produsul BIOENTEROM testat pe gaini de carne, s-au inregistrat sporuri de crestere in greutate mai mari, precum si pierderi mai mici prin mortalitate. Este de mentionat faptul ca produsul BIOENTEROM a putut fi comercializat la preturi substantial mai mici.

Activitatea III.4 Evaluarea eficientei produselor obtinute prin bioconversia lactozei. Cerere de brevet de inventie

Eficienta produselor obtinute prin bioconversia lactozei este data de proprietatile lor nutritionale si functionale, care asigura eficienta formulelor de aditivi furajeri.

A fost elaborata si depusa la OSIM, in data de 02.11.2016, o cerere de brevet cu titlul **Procedeu de adaptare a drojdiei *Kluyveromyces marxianus* pentru cresterea randamentului de obtinere de biomasa**, A2016/00783, titular INCDCP-ICECHIM.

De asemenea, a fost redactata si este in curs de inregistrare cererea de Brevet de inventie cu titlul ***PROCEDEU PRIVIND OBTINEREA DE BIOMASA DIN MICROORGANISME (BACTERII SI DROJDII) CULTIVATE PE ZER***, de catre echipa de la compania ROMVAC.

Activitatea III.5 Demonstrarea cresterii sintezei citokinelor proinflamatorii care mediaza raspunsul imun . Testarea unor factori genetici care ar putea interfera cu modularea expresiei genelor de interes.

Conform rezultatelor obtinute s-a inregistrat un continut de aproximativ 5 ori mai mare de citokine in cultura de *Kluyveromyces marxianus* cu selenit de sodiu, 50 mg/L zer fata de cea cu selenit de sodiu 10 mg/L zer.

De asemenea, cea mai mare acumulare de seleniu este intalnita in rinichi si splina. Cea mai ridicata concentratie de seleniu a fost obtinuta in rinichii prelevati de la gainile din lotul I₁ (~ 500 µg/kg).

Concentratia de seleniu a crescut in ordinea urmatoare:

pentru izolatorul I₁: oviduct > cord > ficat > splina > rinichi

pentru izolatorul I₂: cord > oviduct > splina > ficat > rinichi

pentru izolatorul I₃: cord > oviduct > ficat > splina > rinichi

La soarecii din lotul control s-a constatat ca pot sa apara Gapuri sau efilari ale cromozomilor care par a fi spontane. Frecventele cu care apar aceste modificari la animalele din lotul control sunt reduse si sunt mai ales de tip cromozomal (0,035) si mai rar de tip cromatidian (0,015). Trebuie precizat ca celelalte modificari citogenetice propuse spre analiza nu au fost detectate in lotul control. Diferente similare s-au observat si in cazul animalelor din lotul expus la selenit de sodiu. Prin coroborarea acestor rezultate putem considera ca ele reprezinta o caracteristica a animalelor testate.

Expresia ARNm este reglata de prezenta seleniului in tesuturi. Analizele realizate pe cele doua loturi de soareci nu au evidentiat diferente semnificative in ceea ce priveste nivelul de ARNm sintetizat, ceea ce sugereaza ca sunt implicati si alti factori care interfereaza cu expresia.

Activitatea III.6 Evaluarea influentei administrarii la animale a aditivilor furajeri pe baza de oligozaharide si microelemente chelatare cu aminoacizi asupra raspunsului

imun al acestora fata de unele vaccinuri, in special la gaina si porumbel.
Inregistrarea in lisa produselor ROMVAC si autorizarea pe piata

Cele doua premixuri obtinute in cadrul proiectului OLIGOLAC, si anume OLIGOLAC ANIMAL PREMIX si BIOENTEROM, au in compozitia lor pre-, probiotice si alte substante cu rol declarat imunomodulator si/sau imunoadjuvant.

S-a verificat influenta premixurilor asupra raspunsului imun la puii de gaina fata de doua dintre cele mai importante vaccinuri ale pasarilor - vaccinul contra bolii Gumboro (BIA) si vaccinul contra bolii Newcastle (NDV). S-au inregistrat diferente statistice semnificative in ceea ce priveste nivelul anticorpilor serici NDV, la 117 zile de la initierea vaccinarii contra bolii de Newcastle la puii de gaina.

La porumbei, administrarea aditivului OLIGOLAC ANIMAL PREMIX conduce la cresterea titrurilor postvaccinale, dupa inocularea cu vaccinul PARAMIXOVACOL.

Activitatea III.7 Pagina web, materiale promo, articole, mobilitate internationala

A fost actualizata pagina web. Diseminarea s-a realizat prin prezentarea de comunicari stiintifice in cadrul simpozioanelor nationale si participarea la Targul de produse agricole INDAGRA.

Pe parcursul derularii etapei III a proiectului au avut loc intalniri, in cadrul consortiului, la care au participat organizatiile romanesti. De asemenea, s-a tinut legatura cu partenerul sloven prin intermediul e-mail-ului si telefonic. Partenerul sloven - JATA EMONA a testat mostrele de suplimente furajere trimise de coordonatorul proiectului, ROMVAC. Testele au vizat influenta suplimentelor furajere asupra unor parametri zootehnici, in special sporul in greutate, si a starii de sanatate a unor loturi de pui de carne incepand cu varsta de 1 zi. Rezultatele testelor obtinute de catre partenerul sloven au fost comunicate coordonatorului proiectului sub forma unui scurt raport, care este prezentat mai jos.