



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2007 00775**

(22) Data de depozit: **09.11.2007**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29.06.2012** BOPI nr. **6/2012**

(41) Data publicării cererii:  
**29.05.2009** BOPI nr. **5/2009**

(73) Titular:  
• **UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE  
ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ DIN  
CLUJ-NAPOCA, CALEA MĂNĂȘTUR  
NR.3-5, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:  
• **PETRESCU-MAG IOAN VALENTIN,  
STR. CEAHLĂU NR.54, CLUJ-NAPOCA, CJ,  
RO;**  
• **BUD IOAN, STR.MOGOȘOAI NR.7, SC.5,  
AP.45, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **PETRESCU-MAG RUXANDRA MĂLINA,  
STR. CEAHLĂU NR.54, CLUJ-NAPOCA, CJ,  
RO;**  
• **PAMFIL DORU,  
STR.BISERICII ORTODOXE NR.12,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **GORGAN DRAGOȘ LUCIAN,  
STR.ANA IPĂTESCU NR.6, BL.A 14, SC.D,  
AP.78, PIATRA-NEAMȚ, NT, RO;**  
• **PĂSĂRIN BENONE,  
ALEEA MIHAIL SADOVEANU NR.8, IAȘI, IS,  
RO;**

• **ȘTEFAN REKA,  
STR. POET GRIGORE ALEXANDRESCU  
NR.17, BL.T 3, AP.9 CLUJ-NAPOCA, CJ,  
RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**I. V. MAG, I. BUD, "NIGROCAUDATUS -  
MARKER GENES ON THE X  
CHROMOSOME IN THE GUPPY (POECILIA  
RETICULATA, PETERS, 1859)",  
REZUMATE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE  
ZOOTEHNIE ȘI BIOTEHNOLOGII,  
VOL.XXXIX (1,2), TIMIȘOARA, 2006; US  
5314882; K. KINBERG, B. KORSGAARD,  
P. BJERREGAARD, "EFFECTS OF  
OCTYLPHENOL AND 17BETA-ESTRADIOL  
ON THE GONADS OF GUPPIES (POECILIA  
RETICULATA) EXPOSED AS ADULTS VIA  
THE WATER OR AS EMBRYOS VIA THE  
MOTHER", COMPARATIVE  
BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY PART  
C: TOXICOLOGY & PHARMACOLOGY,  
VOL.134, NR.1, PP.45-55, 2003**

## (54) PROCEDEU PENTRU CREȘTEREA DIMENSIUNILOR CORPORALE LA MASCULII SPECIEI DE PEȘTI ORNAMENTALI GUPPY

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu pentru creșterea dimensiunilor corporale la masculii speciei de pești ornamentali guppy (*Poecilia reticulata*), prin utilizarea valeratului de estradiol ca hormon feminizant. Loturile de masculi corpolenți din specia *Poecilia reticulata*, obținuți prin procedeu conform invenției, au dimensiuni corporale care le depășesc cu 20...40% pe cele ale masculilor din loturile martor, netratate hormonal; în primele 2...3 luni de viață se dezvoltă morfologic macroscopic asemenea femelelor, iar momentul diferențierii sexuale, mai precis colorarea intensă, apariția gonopodiumului și a comportamentului de curtare pot fi

hotărâte de crescător, acestea trei din urmă manifestându-se la masculii tratați în circa 8...20 de zile de la încetarea tratamentului hormonal; indiferent de varietatea sau linia lor, încep a se diferenția sexual la vârste ontogenice târzii, adică la 2,5...3,5 luni, fapt care permite dezvoltarea unei jumătăți posterioare a corpului și a unui peduncul caudal robust, specific femelelor, cu 30...40% mai groase decât în cazul loturilor netratate hormonal.

Revendicări: 1  
Figuri: 1

Examinator: biochimist **BABALIGEA IRINA**



Orice persoană are dreptul să formuleze în scris și motivat, la OSIM, o cerere de revocare a brevetului de invenție, în termen de 6 luni de la publicarea mențiunii hotărârii de acordare a acesteia

# RO 123451 B1

1 Invenția se referă la un procedeu pentru creșterea dimensiunilor corporale la masculii  
speciei de pești ornamentali guppy (*Poecilia reticulata*). Aplicabilitatea procedeeului are șanse  
3 foarte mari de succes în cadrul industriei peștilor ornamentali, mai precis în crescătoriile de  
pești guppy. Menționăm că *Poecilia reticulata* este considerată numărul unu în topul  
5 vânzărilor cu scop acvariofil a peștilor de apă dulce și una dintre cele mai populare și  
decorative specii (Tamaru & Ako 2000; Turan et al 2006).

7 *Poecilia reticulata* este o specie cu un determinism al sexelor de tip *Drosophila*  
(Winge 1922a, 1922b), cu masculul heterogametic (XY) și femela homogametică (XX).  
9 Studiile efectuate în vederea îmbunătățirii performanțelor de formă și culoare a peștilor nu  
sunt o noutate în guppycultură (Schmidt 1920; Blacher 1927, 1928; Goodrich 1944;  
11 Nybelin 1947; Winge & Ditlevsen 1947; Haskins & Haskins 1951, 1948; Haskins et al  
1961; Haskins et al 1970; Dzwilllo 1959; Schroder 1969a, 1969b; Horn 1972; Nayudu  
13 1979; Farr 1983; Phang et al 1989a, 1989b, 1990, 1999; Phang & Fernando 1991;  
Fernando & Phang 1990; Khoo et al 1999a, 1999b, 1999c; Houde 1992; Brooks 2000;  
15 Brooks & Endler 2001; Karino & Hajima 2001). Pe lângă acestea, mărimea corpului  
(Reynolds & Gross 1992; Yamanaka et al 1995; Brooks & Endler 2001) sau a înotătoarei  
17 caudale (Dzwilllo 1959; Schroder 1969a; Nayudu 1979) au fost multă vreme alți parametri  
vizați de către specialiști în vederea aducerii pe piață a unei mărfi de calitate înaltă. Datorită  
19 dimorfismului sexual al speciei, masculii sunt mult mai vii colorați decât femelele, ceea ce  
atrage după sine o cerere mai mare pe piață și o valorificare mai eficientă a masculilor decât  
21 a femelelor. Modificarea raportului dintre sexe prin variația factorilor de mediu a fost una din  
soluțiile găsite de cercetători și crescători (Mag-Mureșan & Bud 2004; Mag & Bud 2005;  
23 Karayucel et al 2006). Mult mai eficientă s-a dovedit, însă, inducerea artificială a  
masculinizării prin tratarea cu androgeni a puietului nou născut (Turan et al 2006) sau a  
25 mamelor gestante în vederea masculinizării embrionilor purtați de acestea (Kavumpurath  
& Pandian 1993a; Pifferer & Lim 1997; Mag & Bud 2006). O altă soluție foarte viabilă s-a  
27 dovedit a fi utilizarea supermasculilor (masculi cu doi cromosomi Y) în loturile de  
reproducători. Orice femele fertilizate de acești masculi produceau femele în proporție de  
29 aproape 100% (Kavumpurath & Pandian 1993b). Masculii YY erau obținuți în urma  
încrucișării pseudofemelelor XY cu masculi normali XY, iar pseudofemelele XY, la rândul lor,  
31 erau obținute prin inversiune sexuală în urma tratamentelor cu estrogeni. Estrogenii utilizați  
până în prezent pentru feminizarea completă sau aproape completă a loturilor sunt următorii:  
33 dietilstilbestrolul ( $300 \text{ mg kg}^{-1}$ ),  $\beta$ -estradiolul ( $400 \text{ mg kg}^{-1}$ ),  $17\alpha$ -etinilestradiolul ( $300 \text{ mg kg}^{-1}$ ),  
3-benzoat estradiolul ( $800 \text{ mg kg}^{-1}$ ) și estrona ( $300 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Yamazaky 1983; Kavumpurath  
35 & Pandian 1993b; a se vedea și US 005314882 A). Ei sunt folosiți prin impregnarea cu  
hormon a furajului și administrarea acestuia femelelor gestante cu 5-10 zile înainte de  
37 parturiție. Uneori, inversiunea sexuală poate fi incompletă sau reversibilă, mai ales atunci  
când hormonul ales are o potență redusă sau perioada de tratament nu a fost aleasă  
39 corespunzător. Toate aceste cazuri de inversiune sexuală temporară au fost privite ca efecte  
secundare/nedorite ale tratamentului, obiectivul cercetătorilor/crescătorilor fiind inversiunea  
41 sexuală permanentă/definitivă.

Valeratul de estradiol, folosit în cadrul prezentei invenții, nu a mai fost utilizat până în  
43 prezent la pești, decât cu scopul inducerii artificiale a inversiunii sexuale la guppy (Petrescu-  
Mag 2007) sau al observării efectelor secundare generate de administrarea lui pe termen  
45 lung la femelele adulte ale aceleiași specii (Mag et al 2006).

Singurele procedee de creștere a dimensiunilor corporale la masculii de guppy  
47 cunoscute, până în prezent, sunt: procedeele selecției empirice (care nu necesită niciun fel de  
descriere, întrucât nu a fost descris științific) și cel al selecției artificiale care are la bază  
49 folosirea ca reproducători masculii corpolenți și femelele mai mari, aceștia fiind identificați în  
urma unor măsurători (morfometrie).

# RO 123451 B1

În prezent, pentru participarea la expoziții și competiții ale guppyculturilor, se aleg 1  
aproximativ 5% din loturile marilor crescători, pești cu calități estetice deosebite, acești pești 3  
având prețuri de vânzare exorbitant de ridicate. 3

Masculii de guppy prezintă un singur neajuns estetic și comercial, acesta fiind dimen- 5  
siunea corporală redusă (lungime standard SL: 26 mm). Au existat, de-a lungul timpului, 5  
eforturi în creșterea dimensiunii acestora prin metodele genetice ale selecției clasice, eforturi 7  
justificate dacă ne gândim la faptul ca dimensiunile corporale sunt caractere cantitative, deci 7  
determinate în mare parte poligenic. Rezultatele nu au întârziat să apară, însă dimensiunile 9  
masculilor nu au crescut spectaculos prin această metodă. 9

Un fapt neobservat sau cel puțin nevalorificat de lumea științifică este acela că indivizii 11  
masculi ai speciei au dimensiuni la maturitate cu atât mai mari cu cât diferențierea sexuală 11  
intervine mai târziu în ontogenia individului. Astfel, problema tehnică pe care își propune să 13  
o rezolve prezenta invenție este de a amâna pe o durată cât mai lungă această diferențiere, 13  
dar suficient de scurtă, pentru ca indivizii să nu rămână femele pentru totdeauna. 13

Procedeul pentru creșterea dimensiunilor corporale la masculii speciei de pești 15  
ornamentali guppy (*Poecilia reticulata*), conform invenției, cuprinde administrarea, la puietul 15  
de o zi, de hrană care conține 300-500 mg kg<sup>-1</sup> valerat de estradiol, timp de 2-3 luni de zile. 17

Prin procedeul conform invenției, rezultă o proporție de 15-45% masculi în lotul tratat 19  
care, la maturitate, prezintă dimensiuni corporale cu 20-40% mai mari decât loturile 19  
varietăților respective în starea netratată hormonal, la maturitate. 19

Invenția realizată constă în creșterea dimensiunilor corporale ale masculilor tuturor 21  
varietăților speciei *Poecilia reticulata*, prin folosirea valeratului de estradiol (figura), ca hormon 21  
feminizant, sub forma produsului farmaceutic Cyclo-Progynova® (Schering AG, Germania; 23  
doar drajeurile albe), în vederea amânării momentului în care juvenilii masculi din punct de 25  
vedere genotipic (XY♂) devin adulți anatomic, morfologic, fiziologic și comportamental. Prin 25  
administrarea orală a concentrațiilor/dozelor cuprinse între 300 și 500 mg valerat de 27  
estradiol/kg furaj (adică 300-500 mg kg<sup>-1</sup>), rezultă o proporție de 15-45% masculi, care, la 27  
maturitate, prezintă dimensiuni corporale cu 20-40% mai mari decât loturile varietăților 29  
respective în starea netratată hormonal, la maturitate. Evident, valeratul de estradiol se poate 29  
administra și sub forma altor produse farmaceutice, atâta timp cât acestea pot fi solubilizate 31  
în etanol concentrat și nu includ alte substanțe hormonale. Rețeta de preparare și 31  
administrare a furajului tratat cu hormon este redată în paragraful următor. 31

Se pun 2 ml alcool etilic 96% într-un mojar de sticlă, la care se adaugă cantitatea 33  
corespunzătoare cântărită de valerat de estradiol pur (figura). În cazul în care hormonul 33  
folosit se află sub formă de tablete sau drajeuri, acestea se mojurează cu atenție ca bucățile 35  
să nu sară din mojar în timpul zdrobirii lor. Se mojurează repede, pentru evitarea evaporării 37  
alcoolului, până la obținerea unui lichid omogen lăptos, la care se adaugă încă 2 ml alcool 37  
96%, cu care se spală pereții mojarului. Se adaugă 20 g furaj de bună calitate, mărunț 39  
granulat (diametrul granulelor trebuie să fie mai mic sau egal cu 1 mm), în mojar și se 39  
omogenizează cu pistilul. Se golește conținutul din mojar pe o hârtie de filtru dublă și se lasă 41  
să se evapore alcoolul timp de 3 h. Hrana astfel impregnată cu hormon se împachetează și 41  
se păstrează la loc uscat, răcoros și ferit de lumina solară. Pentru obținerea unor cantități mai 43  
mari de furaj tratat cu hormon, se utilizează 100 ml etanol, cantitatea corespunzătoare de 43  
hormon și 1 kg furaj de bună calitate (mărunț granulat) și un mojar de sticlă de dimensiuni 45  
adequate. Hrănirea se va face *ad libitum* de trei ori pe zi, fără administrarea altor tipuri de 45  
furaj, suplimente sau orice fel de hrană vie. Nu se amplasează în acvariile de creștere plante 47  
de consistență moale, care pot servi peștilor ca hrană alternativă și care pot diminua efectul 47  
tratamentului. 47

# RO 123451 B1

1 Prin administrarea orală a furajului astfel impregnat cu hormon, la puietul de o zi -  
până la vârsta de 2-3 luni, în funcție de viteza de creștere a varietății/liniei, precum și de  
3 dimensiunile urmărite a fi obținute la masculi, rezultă o proporție de 15-45% masculi, care,  
la maturitate, prezintă dimensiuni corporale cu 20-40% mai mari decât masculii loturilor  
5 varietăților respective în starea netratată hormonal, la maturitate. Diferențierea sexuală, mai  
precis coloritul, *gonopodium*-ul și comportamentul de curtare vor apărea la masculii tratați în  
7 circa 8-20 zile de la încetarea tratamentului hormonal. De-a lungul tratamentului aplicat,  
indivizii genotipic masculi se dezvoltă fenotipic, cel puțin morfologic/macroscopic, similar  
9 femelelor, dimensiunea corporală mare fiind un caracter sexual secundar feminin, care  
persistă după încetarea tratării cu estrogen. După 30-40 zile de la încetarea tratamentului  
11 hormonal, indivizii masculinizați încetează a mai crește semnificativ în dimensiuni corporale  
propriu-zise. Totuși, înotătoarele dorsală și caudală continuă să crească la toate varietățile  
13 cu înotătoare în formă de voal, în special la cele care prezintă gena codificatoare a  
caracterului *pigmentiert caudalis*.

15 Explicația acestui fenomen de inversiune sexuală temporară este aceea că valeratul  
de estradiol nu este atât de potent precum alți estrogeni utilizați în manipularea sexelor, iar  
17 perioada postnatală de tratament a puietului nu este cea mai potrivită pentru inducerea unei  
inversiuni sexuale definitive și complete.

19 Cele mai evidente îmbunătățiri fenotipice ale masculilor tratați se constată la nivelul  
jumătății posterioare a corpului și pedunculului caudal unde grosimea crește cu 30-40%  
21 comparativ cu masculii loturilor netratate. În timp ce masculii loturilor netratate, care prezintă  
caudale cu creștere continuă, întâmpină problema de a purta caudala ca pe o povară de la  
23 vârsta adultă până la senescentă, masculii de același tip, dar tratați hormonal prin procedeul  
expus, dețin forța necesară unui înot elegant, datorită grosimii corpului și pedunculului  
25 caudal.

27 Trei doze/concentrații hormonale (din multele concentrații testate de noi) au dus la  
rezultatele descrise, acestea fiind: 300, 400 și 500 mg kg<sup>-1</sup>. Folosirea oricărei doze/concen-  
trații din cele trei menționate duce la aceleași rezultate, fără diferențe semnificative.

29 Aplicabilitatea tehnologiei la nivel industrial este evidentă: prin ineditul procedeu  
prezentat se pot obține, în industria peștilor ornamentali, masculi cu performanțe fenotipice  
31 (nu neapărat și genetice) calitative deosebite și care pot fi valorificați la prețuri mult mai mari  
decât prețul pieței. Potențialii cumpărători sunt, de această dată, nu doar amatori pasionați,  
33 ci profesioniști interesați de participarea la competiții și expoziții internaționale ale  
guppyculturilor sau posesorii unor acvarii de lux interesați de rarități. Femelele supra-  
35 numerare (55-85% din total) rezultate inevitabil în loturile tratate cu dozele menționate, nu  
sunt simple rebuturi, ci sunt femele care dețin potențialul producerii unor stocuri preponderent  
37 mascule în descendență, ca urmare a faptului că 5-35% din acestea sunt din punct de vedere  
genotipic masculi (XY♀) și doar funcționează ca femele.

39 Față de procedeul ameliorării speciei, din punctul de vedere al dimensiunilor  
corporale, prin procedeele empirice sau ale selecției clasice, procedeul de față aduce  
41 avantajul că indivizii de dimensiuni mari pot fi obținuți direct, într-o singură generație,  
comparativ cu selecția artificială care presupune un număr mai mare de generații, încrucișări  
43 sau retroîncrucișări. Al doilea argument al utilității procedeeului propus aici este acela că  
selecția artificială a indivizilor de dimensiuni mari nu poate fi decât complementară  
45 procedeeului nostru: aplicând tratamentul prezentat unei linii ameliorate de guppy pentru  
dimensiunea corporală, dimensiunile masculilor tratați vor fi cu 20-40% mai mari decât  
47 masculii aceleiași linii de pești netratați hormonal - martor.

# RO 123451 B1

## Revendicare

1

Procedeu pentru creșterea dimensiunilor corporale la masculii speciei de pești ornamentali guppy (*Poecilia reticulata*), caracterizat prin aceea că acesta cuprinde administrarea, la puietul de o zi, de hrană care conține 300-500 mg kg<sup>-1</sup> valerat de estradiol, timp de 2-3 luni de zile.

3

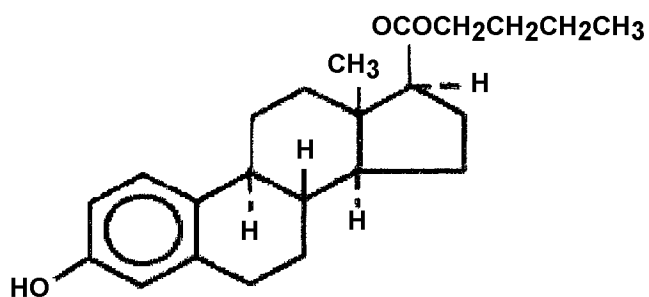
5

(51) Int.Cl.

**A01K 61/00** (2006.01),

**A23K 1/165** (2006.01),

**C07G 15/00** (2006.01)



Valerat de estradiol

estra-1,3,5(10)-trien-3,17-diol(17P)-,17-pentanoat



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 303/2012