

# REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1016 (13) F1  
(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: A 01 K 61/00

## (12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: 97-0322	(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
(22) Data depozit: 19.12.1997	
(31) Nr.:	
(32) Data:	(85)
(33) Țara:	
(30)* Nr.	(86)
(10)* Brevet nr.	

  

(71) Solicitant: Institutul de Zoologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD
(72) Inventatori: Zubcov Elena, MD; Toderaș Ion, MD; Turiatco Ion, UA; Zubcov Natalia, MD
(73) Titular: Institutul de Zoologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD

(54) Procedeu de reproducere artificială a chefalului pilengas  
(57) Rezumat:

1

### Rezumat:

Invenția se referă la domeniul pisciculturii, în special la obținerea în condiții industriale a alevinelor de chefal pilengas de la reproducătorii aclimatizați în condițiile limanelor Mării Negre.

Esența invenției constă în aceea că se selecționează reproducătorii, se stimulează pubertatea femelelor prin injectare în etape a suspensiei de hipofiză acetonată de crap începând cu stadiul de oocit vitelin peste fiecare 24 ore până la începerea fazei de inițiere a formării picăturilor de grăsime a oocitului, în doza de 0,5...1,0 mg/kg masă de pește, apoi peste fiecare 12 ore suplimentar se injectează hipofiza acetonată de crap în aceeași doză până la începerea fazei unei

2

picături de grăsime a oocitului, după care, hipofiză acetonată de crap este injectată femelei cu o doză declanșatoare de 4...6 mg/kg masă de 1...3 ori, temperatura apei fiind mărită până la 20...22°C, concomitent, la această etapă, masculii se stimulează prin injectare de hipofiză acetonată de crap în doza de 1,0...2 mg/kg masă și totodată ei se maturează în aceleași condiții ca femelele, icrele obținute se fecundază prin metodă "uscată" și se incubează în apă cu salinitatea de 16-18 promile.

Rezultatul tehnic constă în majorarea cantității de icre fecundate și procentului de ecloziune a larvelor.

Revendicări: 1

MD C2

## MD C2

3

### **Descriere: Procedeu de reproducere artificial[ a chefalului pilengas**

Inven\ia se refer[ la domeniul pisciculturii, ]n special, la ob\inerea  
5 ]n condi\ii industriale a alevinelor de chefal pilengas de la reproduc\torii aclimatiza\i ]n condi\iile limanelor M[rrii Negre.

Este cunoscut procedeul de reproducere a chefalului pilengas. [1]

]ns[ procedeul cunoscut nu asigur[ ]ntr-o m[sur[ suficient[ ie=irea  
alevinelor biologic rezistente. Mai mult decat atat, pentru stimularea  
10 pubert[\ii reproduc\torilor se folose=te un preparat scump -  
honadotropinul coriohonic.

Problema pe care o rezolv[ inven\ia este ob\inerea alevinelor de  
mare rezisten\ biologic[ de pilengas ]n condi\ii industriale.

Esen\a inven\iei const[ ]n aceea c[ se selec\ioneaz[  
15 reproduc\torii, se stimuleaz[ pubertatea femelelor prin injectarea ]n  
etape a suspensiei de hipofiz[ acetona[ de crap ]ncepand cu stadiul de  
oocit vitelin peste fiecare 24 ore pan[ la ]nceperea fazei de ini\iere a  
form[rrii pic\turilor de gr[sime a oocitului, ]n doza de 0,5-1,0 mg/kg  
mas[ de pe=te, apoi peste fiecare 12 ore suplimentar se injecteaz[  
20 hipofiza acetona[ de crap ]n aceea=i doz[ pan[ la ]nceperea fazei unei  
pic\turi de gr[sime a oocitului, dup[ ce, hipofiza acetona[ de crap este  
injectat[ femelei cu o doz[ declan=atoare de 4-6 mg/kg mas[ de 1-3 ori,  
temperatura apei fiind marit[ pan[ la 20-22° C, ]n acela=i timp, la  
aceast[ etap[, masculii se stimuleaz[ prin injectare de hipofiz[ acetona[  
25 de crap ]n doza de 1,0-2,0 mg/kg mas[ =i totodat[ ei se matureaz[ ]n  
acelea=i condi\ii ca femelele, icrele ob\inute se fecundeaz[ prin metod[  
"uscat[" =i se incubeaz[ ]n ap[ cu salinitatea de 16-18 promill.

Problema ]n cauz[ se rezolv[ ]n modul urm[tor: suplimentar  
masculii sunt stimula\i cu hipofiz[ acetona[ de crap ]n doz[ de 1,0-1,5  
30 mg/kg mas[ =i se matureaz[ ]n acelea=i condi\ii ca femelele.  
Masculilor "instabili" li se administreaz[ o doz[ de 2 mg/kg (de dou[

## MD C2

4

ori cate 1 mg sau o data doza de 2 mg/kg). Masculii folositi de mai multe ori necesita administrarea permanenta a suspensiei, intrucat incetarea stimulării hormonale, de exemplu, timp de doua zile duce la oprirea spermatogenezei.

5 Rezultatul tehnic constat in aceea c creste cantitatea icrelor fecundate si procentul de eclozionare a larvelor.

Procedeul se realizeaza in modul urmator. Cercetarile au fost efectuate cu reproducătorii pilengasului crescuti si adaptati la conditiile golfului Polievskii al limanului Hadjibei, unde salinitatea apei  
10 constituia 8,8-12 promil si doar in cursul superior atingea 18 promil. Pentru lucrari au fost folositi reproducători cu diametrul oocitelor de la 380 pana la 600  $\mu\text{m}$  si masa corpului de la 0,7 pana la 2,6 kg.

Pubertatea femelelor se stimuleaza prin injectarea suspensiei de hipofiza acetona de crap pregatita de curand. Suspensia este pregatita in  
15 solutie fiziologica. Dozele se selecteaza pentru fiecare caz concret, reieind din factorul de maturizare a oocitelor. In etapa initiala pentru stimularea dezvoltării oocitelor se folosesc dozele cuprinse intre 0,5-1,0 mg/kg masa, injectiile se administreaza in fiecare zi.

La momentul cand dimensiunile atingeau 580-610  $\mu\text{m}$  oocitele  
20 trec in faza initiala de formare sau matura a picăturilor de grasime (NPG), la acest stadiu pe toti sunt injectati fiecare 12 ore cu aceeași doză 0,5-1,0 mg/kg masa, iar in timpul trecerii in stadiul unei picături de grasime (1 PG) pe toti li se administreaza o doza declanșatoare de suspensie de hipofiza acetona de crap, ea constituind 4-6 mg/kg masa.  
25 După una-doua, mai rar trei, injectii declanșatoare, icrele se ovuleaza, drept consecinta obținand oul matur (icrele) cu diametrul de 680-740  $\mu\text{m}$  si picătura de grasime cu diametrul de 400-455  $\mu\text{m}$ .

Icrele fiecarei femele se supun prin metoda "uscata" fecundării cu sperma a 2-4 masculi, adica in icrele filtrate se adauga spermă, se  
30 amesteca atent cu o pana de gasc si apoi in ea se adauga apa din

## MD C2

5

bazinele pentru incubare, apa avand un grad de salinitate de 16-18 promill. Peste 15-20 min icrele se spal[ cu ap[, apoi la expirarea a 1-1,5 ore se verific[ procentul de fecundare =i icrele se transfer[ ]n bazinul pentru incubare.

5        Temperatura apei ]n rezervorul cu reproduc[tori se men\ine cu ajutorul condi\ionerelor ]n limitele a 18-19°C, iar dup[ injec\ia declan=atoare condi\ionerele ]n rezervor se deconecteaz[ =i temperatura apei se m[re=te pan[ la 20-22°C.

      ]n experiment, atunci cand temperatura apei dup[ injec\ia  
10 declan=atoare a fost de sau sub 19°C, procentul de fecundare a icrelor a fost foarte mic - mai pu\in de 35-45%, iar ]n stadiul de eclozionare, ]ndeosebi atunci cand larvele trec la o form[ mixt[ de alimentare, viabile au r[mas doar aproximativ 5% de larve.

      Procentul de fecundare a icrelor constituie 55-94 %, procentul de  
15 eclozionare a larvelor - 65-82 % =i randamentul alevinelor de 24 zile - 37-62 % din cantitatea icrelor fecundate supuse incub[rii.

      ]n cazul m[ririi treptate a dozelor de hipofiz[ de la cele ini\iale la cele declan=atoare, procentul de fecundare a icrelor a fost de asemenea sc[zut, mai mult decat atat, adeseori icrele ob\inute erau moarte.

20

*Exemplul 1.* Femelele =i masculii selecta\i pentru cercetare sunt transfera\i ]n rezervorul pentru reproduc[tori, unde salinitatea apei se men\ine la nivelul 16-17 promill, con\inutul oxigenului este cel pu\in de 6,5 mg/l, temperatura apei - cel mult 19° C.

25        Masculii, dac[ ei nu fac parte din cei "instabili", sunt stimula\i cu o suspensie de crap preg[tit[ de curand ]n doz[ de 1 mg/kg mas[ fiecare 24 zile, masculilor "instabili" li se administreaz[ injec\iile doar atunci cand exist[ femele apropiate de momentul de ovula\ie (]n stadiul 1 PG) ]n aceea=i doz[ cate 1 mg/kg mas[, iar ]n cazuri excep\ionale - 2  
30 mg/kg.

## MD C2

6

Femelele după aprecierea stării lor sunt marcate cu ajutorul unor coloranți speciali prin administrare cu un ac subțire în pungă subsolzoasă. Femelelor cu dimensiunile oocitelor cel mult de 440 μm li se administrează suspensie de hipofiză de crap pregătită de curând în doză  
5 de 0,5 mg/kg masă, iar femelelor cu diametrul oocitelor de 450 μm =i mai mult - câte 1 mg/kg, fiecare 24 zile până la trecerea în stadiul NPG, apoi cu aceleași doze se fac injecții fiecare 12 ore. De regulă, peste 1-3, mai rar 5-6 zile oocitele trec în stadiul 1 PG. La acest stadiu se administrează suspensia hipofizară de crap în doză de 4-5 mg/kg masă.  
10 Temperatura apei se menține până la 20-22°C, deconectând pentru această condiționare. În cazul ovulării incomplete peste 12 ore se mai administrează suplimentar o doză. Icrele în ovulație se filtrează într-un pahar gradat uscat sau într-un vas, se măsoară volumul, diametrul =i se transferă într-o albie sau într-un vas de masă plastic. Diametrul icrelor  
15 constituie 680-740 μm, iar alpicăturilor de grosime - 400 - 455 μm. Sperma de la 2 - 3 masculi se filtrează, se toarnă într-o albie cu icre, se amestecă cu o pană de găscă =i pe pereții albiei se toarnă apă cu salinitatea de 16 - 18 promil reie =ind din calculul 3 - 4 litri la 0,5 l icre. Peste 15 - 20 min icrele se spală cu apă din bazinul pentru incubarea  
20 icrelor. Peste 1,5 ore se determină procentul de fecundare a icrelor, care constituie 82 - 94 % la femelele cu dimensiunile inițiale ale oocitelor de 460-560 μm =i 55-72 % la femelele cu dimensiunile inițiale ale oocitelor de 380 - 450 μm. Icrele se transferă în bazinul pentru incubare cu salinitatea de 16,6 - 18 promil. Procentul de eclozionare a  
25 embrionilor este egal cu 65 -82 %, randamentul alevinelor de 24 zile - 37 - 62 % din cantitatea icrelor fecundate supuse incubării.

*Exemplul 2.* Trei femele cu diametrul oocitelor de 458, 495 =i 558 μm, respectiv, sunt stimulate conform schemei din primul exemplu, însă în stadiul 1 PG peștii sunt menținuți la temperatura apei de 17,6 -  
30 18,4°C, procesul de ovulație se prelungește, uneia din femele i se

## MD C2

7

administrează trei injecții declanșatoare, iar femelele a treia - patru injecții. Icrele în ovulație se filtrează, se fecundază, cantitatea icrelor fecundate peste 1,5 ore după fecundare constituie 27 - 42 %, după eclozionare rămân aproximativ 25 % embrioni, iar cu trecerea la o formă mixtă de alimentare acestea constituie aproximativ 5 %.

*Exemplul 3.* Se selectează trei femele cu diametrul oocitelor de 460, 500 și 540  $\mu\text{m}$ , se mențin în aceleași bazine ca și femelele din exemplul precedent. Injecțiile se administrează conform sistemului 1 mg/kg masă peste 24 zile până la stadiul inițierii NPG, apoi injecțiile se administrează peste 12 ore, treptat mărind doza conform următoarei scheme: primele zile - 1,0 mg/kg, în faza 5 -10 PG doza se mărește până la 1,5 - 2,0 mg/kg, în faza 5 PG - până la 2,5 - 3,0 mg/kg și ajungând în faza 1 PG peștilor li se administrează doze declanșatoare - 4 - 6 mg/kg. Icrele se filtrează, la două femelele practic toate sunt moarte, la a treia - cantitatea icrelor fecundate vii constituie doar 12%.

Exemplele de realizare a procedurii confirmă eficiența acestora. Procentul de fecundare a icrelor constituie 55 - 94%, procentul de eclozionare a larvelor - 65-82%, randamentul alevinelor de 24 zile - 37-62%, ceea ce este optim pentru aceste pești. Astfel, procedeul face posibil de a obține la o scară industrială alevine biologice rezistente de chefal pilengas de la reproducătorii adaptați la condițiile limanelor Mării Negre, aceasta fiind deosebit de important în vederea îmbogățirii resurselor piscicole atât ale bazinelor naturale, cât și ale celor artificiale cu o asemenea specie de valoare industrială cum este chefalul pilengas.

### **(57) Revendicare (ări): Revendicări:**

Procedeu de reproducere artificială a chefalului pilengas, cuprinzând selecția reproducătorilor, stimularea femelelor prin injecție periodică a suspensiei de hipofiză acetonată de crap începând cu stadiul de oocit vitelin peste fiecare 24 ore până la începerea fazei de inițiere a formării picăturilor de grăsime, obținerea de la femelele a icrelor mature și de la masculi a spermei și fecundarea icrelor cu sperma, caracterizat prin aceea că hipofiza acetonată de crap este administrată femelelor în doza de 0,5-1,0 mg/kg masă de pește, apoi peste fiecare 12 ore suplimentar se administrează hipofiza acetonată de crap în aceeași doză până la începerea fazei unei picături de grăsime a oocitului, după ce, se efectuează injecția de hipofiză acetonată de crap cu o doză declanșatoare de 4-6 mg/kg

## MD C2

8

masă de 1-3 ori, temperatura apei fiind mărită până la 20-22° C, totodată masculii se stimulează prin injecție de hipofiză acetonată de crap în doză de 1,0-2 mg/kg masă și ei se maturează în aceleași condiții ca femelele, icrele obținute se fecundează prin metodă "uscată" și se incubează în apă cu salinitatea de 16-18 promil.

5

10

### **(56) Referințe bibliografice:**

**Șef secție:** CRECETOV Veaceslav

**Examinator:**

**Redactor:**