

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 502**

51 Int. Cl.:

A61P 3/02 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

A23K 1/165 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.04.2006 E 06792454 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2015 EP 1871481**

54 Título: **Método para prolongar el período de movilidad estacional de los peces**

30 Prioridad:

21.04.2005 EP 05075948

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

21.12.2015

73 Titular/es:

**DESOL BV (100.0%)
Handelsweg 7
6114 BR Susteren, NL**

72 Inventor/es:

**VAN DEN ELSHOUT, WILHELMUS y
FORIER, RUDI LUDOVICUS FLORENT**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 554 502 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para prolongar el período de movilidad estacional de los peces.

Esta invención es en el campo de la alimentación animal, más en particular en el campo de alimento para peces.

El alimento para peces viene en una gran variedad de sustancias. Es esencial que dicho alimento contenga todos los nutrientes necesarios para que crezca bien el animal y para proteger al animal de la enfermedad.

Es un fenómeno muy conocido que muchas especies de peces presentan un periodo de reposo cuando la temperatura del agua o la duración del día cae por debajo de un cierto valor. Durante ese periodo de movilidad reducida, el metabolismo de los peces disminuye considerablemente. Como consecuencia, los peces no consumirán alimento y permanecerán en la fase inmóvil mientras la temperatura y/o las condiciones de luz diurna se mantengan en el nivel subcrítico. Cuando la temperatura del agua y/o la duración del día aumentan de nuevo, por ejemplo debido a cambios estacionales, los peces llegarán a ser móviles y comenzarán a comer de nuevo.

Este mecanismo se ha estudiado extensamente por ejemplo en el pez koi. El koi llegará a estar inmóvil cuando la temperatura del agua caiga por debajo de aproximadamente 8 grados Celsius. La movilidad de los peces se reduce enormemente y descenderá a aguas más profundas y permanecerá allí siempre que esta condición se mantenga. Cuando en la primavera la temperatura del agua se eleve por encima de 8 grados Celsius, los peces llegarán a ser móviles de nuevo y empezarán ocasionalmente a nadar a la superficie.

Los propietarios de peces koi han intentado aumentar el periodo de actividad o la movilidad de sus koi por razones obvias. Se sabe que, en la primavera, la temperatura del aire se eleva más rápidamente que la temperatura del agua. Por lo tanto, los propietarios de koi querrían que sus peces salieran a la superficie a aproximadamente el mismo tiempo que parecen recrearse fuera.

Una de las soluciones obvias proporcionadas para este problema es calentar el agua usando dispositivos de calentamiento artificial de manera que la temperatura del agua no caiga por debajo del valor crítico. También se ha sugerido prolongar de manera artificial el día de manera que el koi pueda permanecer móvil durante un periodo de tiempo más prolongado. Ni qué decir tiene que eso pueden ser soluciones costosas y consumidoras de energía especialmente con piscinas exteriores grandes en climas fríos.

Sorprendentemente, ahora se ha encontrado que el periodo de movilidad estacional de los peces se puede prolongar interfiriendo en la dieta de los peces. Se encuentra que es posible aumentar el periodo de movilidad estacional del pez hasta tal punto que esté incluso activo a temperaturas tan bajas como 2 grados Celsius. Eso se puede conseguir añadiendo sustancias que se encuentran en la naturaleza para alimentar a los peces.

La expresión "prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces" se usa en la presente memoria para indicar que el pez puede presentar un periodo prolongado durante el cual es móvil, siendo este periodo prolongado, por ejemplo, el periodo determinado por cambios estacionales. Más en particular, la expresión "prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces" se destina a querer decir que se prolonga el espacio de tiempo entre dos periodos estacionales de frío en los que el pez es móvil. El fenómeno también se puede describir, por lo tanto, como disminución de la temperatura mínima a la que el pez llega ser móvil después de un periodo de frío. Véase también la figura 1 para una representación gráfica del fenómeno.

Ejemplos de las sustancias que se encuentran en la naturaleza que ocasionan los efectos de acuerdo con la invención, son ingredientes que mejoran la inmunidad como los beta-glucanos y pequeñas cantidades de fitohormonas como auxina o ácido giberélico. Las combinaciones de estas sustancias, en particular la combinación de beta-glucanos y fitohormonas, más en particular ácido indol-3-acético (IAA (por sus siglas en inglés), auxina) libre, demostraron presentar un efecto sinérgico por que prolongaban el periodo de movilidad estacional de los peces, incluso más que los componentes individuales por sí mismos.

Se han usado hormonas vegetales en la producción de alimento para peces. Por ejemplo, Base de Datos WPI Sección Ch, Semana 198540 Derwent Publications Ltd, Londres, GB; Clase B05, AN 1985-246149 XP002388895 patente japonesa JP 60 161920 A (Kamata M) 23 de Agosto de 1.985 describe el uso de hormonas vegetales tales como oxina (sic) y giberelinas a un nivel de 10 mg por kg en la producción de alimento para peces para la aceleración de crecimiento en los peces.

Se describen promotores similares en la Base de Datos WPI Sección CH, semana 200336 Derwent Publications Ltd. Londres, GB; clase D13 AN 2003-375762 XP002388896; patente japonesa JP 2002 281914 A (Nishinihon Green YG) 2 de octubre de 2.002.

Los resúmenes de patente de Japón vol 1.995 nº 05, 30 de junio de 1.995; patente japonesa JP 07 051000 A (Nippon Synthetic Chem Ind. Co Ltd;The), 28 de febrero de 1.995 describe el uso de 1 - 50 g de beta-glucano por kg de alimento en un método para aumentar la viabilidad de los peces.

La patente internacional WO 2004/105775 explica un medio para estimular a los peces por aplicación de cantidades

similares de beta-glucano a su alimento.

La patente de EE.UU. 6.306.453B1 explica un medio adicional para estimular a los peces añadiendo hasta 10 g de beta-glucano por kg de alimento.

5 Las fitohormonas se definen en la presente memoria como moléculas que funcionan para coordinar el crecimiento y desarrollo de la planta. Los compuestos que se han considerado como hormonas vegetales son por ejemplo: ácido indol-3-acético (IAA, auxina), citocinina, giberelina, ácido giberélico, etileno, ácido abscísico. Además, se ha demostrado que los brasinoesteroides, ácido jasmónico y ácido salicílico presentan importantes actividades reguladoras del crecimiento y se considera que funcionan como fitohormonas.

10 Se obtuvieron buenos resultados en particular cuando se enriqueció el alimento de los peces con IAA libre en vez de IAA conjugado. El término "IAA libre" se usa en la presente memoria para indicar que el IAA libre está en la forma libre o ácida, mientras que el término "IAA conjugado" se refiere a IAA que está conjugado por uniones éster o por uniones amida.

15 El IAA libre y IAA conjugado son compuestos conocidos. El IAA libre es una fitohormona de crecimiento vegetal que se encuentra en la naturaleza que se ha estudiado extensamente. En las plantas, la mayoría del IAA se encuentra en una forma conjugada (Slovin et al. 1.999, *Biochemistry and molecular biology of plant hormones*, Elsevier, Amsterdam. P115-140), conjugado a azúcares mediante uniones éster o a aminoácidos y péptidos mediante uniones amida.

20 El IAA libre está fácilmente disponible como un producto comercial. Se puede sintetizar de manera química o se puede preparar de una manera biológica. Los microorganismos que producen IAA están extendidos en la naturaleza. Se sabe que las levaduras, hongos y muchas bacterias así como plantas convierten precursores de IAA en IAA libre. Además de la conversión de L-triptófano por las bacterias, también se describen extensamente las rutas bioquímicas independientes de L-triptófano a IAA libre (J. Plant Growth Regul (2.001) 20: 198-216).

25 Una bacteria conocida, capaz de producir IAA libre es *Azospirillum Brasilense* (AB). Al final de la fase de crecimiento en un procedimiento de fermentación regular, AB puede convertir L-triptófano en IAA libre. Para aumentar la eficacia de esta conversión, se puede añadir una pequeña cantidad de IAA libre sintético al medio. Por un mecanismo de retroalimentación, AB aumenta la conversión de L-triptófano en IAA libre.

Las concentraciones finales de 1 gramo de IAA libre/litro de caldo de cultivo son fáciles de preparar, pero son posibles concentraciones incluso mucho mayores, dependiendo del microorganismo usado.

30 Después de terminar la fermentación el microorganismo se puede lisar y se puede obtener un polvo enriquecido en IAA libre por secado por atomización o cualquier otra manera conveniente de secar el caldo de cultivo. Se pueden usar otras técnicas para eliminar líquidos parcialmente o completamente.

35 Ya en 1.956, se estudiaron los efectos de IAA libre en seres humanos y se demostró que dosis únicas de 0,1 g/kg no eran tóxicas (Mirsky A y Diengott D, Hypoglycemic action of indol-3-acetic acid by mouth in patients with diabetes mellitus, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 93: 109-110. 1.956). En 1.964, se encontró que los productos de la foto-oxidación de IAA libre actuaban como inhibidores del crecimiento de los microorganismos (Still C, Fukuyama T y Moyed H, *Inhibitory Oxidation Products of Indol-3-acetic acid*, *J. Biological Chemistry*, 240.6, 2.612-2.618, 1.964).

40 También, se ha descrito previamente el uso médico de IAA libre y algunos de sus derivados. La patente europea EP 1.296.676 describe el uso de IAA libre como un producto farmacéutico, en particular para tratar enfermedad neoplásica en seres humanos. La patente internacional WO 02/080906 describe el uso de IAA libre para tratar la endometriosis en mujeres. Nachson et al. (*Food and Chemical Toxicology* 41, 745-752) indicaron el efecto de algunos derivados de IAA libre (indol-3-carbinol y 3,3'-diindolilmetano) en la proliferación e inducción de muerte celular programada en estirpes celulares de cáncer de próstata humano mientras Rossiter et al. (*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12, 2.523-2.526) así como Folkes et al. (*Biochemical Pharmacology* 63, 265-272) describen el uso de IAA libre y algunos derivados en terapias contra el cáncer dirigidas por enzima-profármaco.

45 Se ha descrito en la técnica alimento para animales que comprende IAA, por ejemplo, la patente de EE.UU. A-2925341 describe un aditivo alimentario que comprende 10-50 mg de ácido indol-acético por kilogramo de alimento.

50 Ahora se ha encontrado que las fitohormonas y los beta-glucanos actúan en un amplio intervalo de concentraciones para prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces. Las concentraciones óptimas pueden variar algo entre diferentes especies de pescados, sin embargo, el experto sabrá cómo obtener una concentración óptima para un especie determinada, por ejemplo por valoración del compuesto deseado en alimento para los peces y ensayando cuándo esto presentaría el efecto óptimo. Lo siguiente puede servir como guía en este procedimiento.

55 Un experto apreciará que la cantidad de IAA libre en el alimento listo para uso se tiene que ajustar para suministrar al animal una cantidad eficaz de IAA libre. Para ajustar la concentración de IAA libre en el alimento a fin de que se consiga un cierto aporte diario de IAA libre, se tiene que realizar una estimación de la ingesta de alimento de un animal o grupo animal. Un experto es conocedor de la ingesta de alimento de un animal o de animales (clase o

grupo de animales) particulares. Típicamente, la ingesta de alimento por día está entre 0,05 y 10% del peso corporal del animal, con excepciones ocasionales tan altas como 20%. Los Koi que despiertan de su periodo de descanso, sin embargo, consumen mucho menos, del orden de 0,01 a 0,1% de su peso corporal.

Los peces Koi respondieron a movilidad aumentada cuando se proporciona IAA libre en el intervalo de 0,02 and 240 microgramos por kilogramo de peso vivo al día (ug/kg/p/día). Se consiguió el óptimo entre coste y beneficio en concentraciones entre 0,2 y 24 ug/kg/p/día, en particular fue muy eficaz el alimento que contenía entre 1 y 5 ug/kg/p/día tal como 2,4 ug/kg/p/día de IAA libre.

Se describe en la presente memoria un método para prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces en el que los peces se alimentan con IAA libre en un intervalo de 0,02 y 240 microgramos por kilogramo de peso vivo por día (ug/kg/p/día).

Es particularmente adecuado para este fin un alimento para peces que comprende entre 0,3 y 3.000 miligramos de IAA libre por kilogramo de alimento para peces. Se describe en la presente memoria el uso de un alimento para peces que comprende entre 0,3 y 3.000 miligramos de fitohormonas por kilogramo de alimento para prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces.

También se encontró que dentro de la familia de los beta-glucanos, en particular los 1,3 y 1,6 beta-glucanos fueron muy útiles para prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces. Una buena fuente en particular de tales 1,3 y 1,6 beta-glucanos se puede encontrar en las preparaciones de *Agaricus blazei murill* (ABM) o en las paredes celulares de levaduras. Se puede usar ABM fresco o ABM seco en la invención, ABM seco es normalmente 10% del peso de ABM fresco. El ABM seco puede contener del orden de 2 a 50% de 1,3 y/o 1,6 beta-glucanos, típicamente del orden de 10 a 20%.

Cuando se alimentaron los peces con 1 a 10.000 ug/kg/p/día de *Agaricus blazei murill* seco (que corresponde a 10 a 100.000 ug de *Agaricus blazei murill* fresco por kg/p/día) esto se encontró que producía el efecto deseado de prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces. Esto corresponde a aproximadamente 0,1 a 2.000 ug/kg/p/día de 1,3 y 1,6 beta-glucanos. Se tuvieron excelentes resultados cuando se alimentaron los peces con 10 a 200 ug/kg/p/día de 1,3 y 1,6 beta-glucanos, se obtuvo que el óptimo de coste-beneficio estaba alrededor de 60 ug/kg/p/día de 1,3 y 1,6 beta-glucanos o 600 ug/kg/p/día de *Agaricus blazei murill* seco.

Se describe en la presente memoria un método para prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces en el que se alimentan los peces con 0,1 a 2.000 ug/kg/p/día de 1,3 y 1,6 beta-glucanos.

Es particularmente adecuado para este fin un alimento para peces que comprende entre 0,015 y 150 gramos por kilogramo de alimento para peces. Se describe en la presente memoria el uso de un alimento para peces que comprende entre 0,015 y 150 gramos de beta-glucanos por kilogramo de alimento para prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces.

El alimento para animales que comprende beta-glucanos está fácilmente disponible. Por ejemplo, la patente internacional WO 02/091850 A describe un alimento para animales que comprende 100-1.000 mg de beta-glucanos por kilogramo de alimento. También, la patente japonesa JP 07 051000A, la patente de EE.UU. 6306453 B1, las patentes internacionales WO 2004/105775, WO 02/37988, WO 2004/066863, WO 2004/014320 y la patente de EE.UU. 2005/020490 A1 describen composiciones que comprenden beta-glucanos y que pueden ser adecuadas para uso como un alimento para animales. El alimento para animales también se ha descrito en Hiss and Sauerwein, *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 87, 2.003, págs. 2-11, Deblackwell, Berlín.

Los peces Koi también mostraron el efecto deseado cuando se enriqueció su alimento con Giberelina o Ácido giberélico. Las concentraciones óptimas se encontraron aquí que estaban dentro del intervalo de 0,002 y 20 ug/kg/p/día. En el intervalo de 0,02 y 2 ug/kg/p/día fue particularmente pronunciado el efecto de prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces. Los resultados óptimos se consiguieron entre 0.1 and 2 ug/kg/p/día, como tal como 0,24 ug/kg/p/día.

Se han descrito sustancias alimenticias adecuadas que comprenden ácido giberélico. La patente de EE.UU. A-2943938 y Svihus et al. (*Journal of Animal Science*, 64, 1.997, pág. 257-272) describen un alimento para animales que comprende cantidades adecuadas de ácido giberélico por kilogramo de composición.

Leyenda de la Figura

Figura 1. El gráfico muestra la temperatura promedio mensual en Los Países Bajos (Fuente KNMI, de Bilt, Países Bajos, www.knmi.nl). Las líneas horizontales en 8 y 3 grados Celsius en el gráfico ilustran que, si la temperatura a la que empieza el pez a ser móvil, se disminuye de 8 a 3 grados Celsius, el periodo de movilidad estacional del pez se prolonga con aproximadamente 2 a 3 meses.

Ejemplos

Ejemplo 1: Producción microbiológica de una preparación que contiene IAA libre.

Se obtuvo *Azospirillum brasilense* Sp7 (ATCC) como un cultivo de agar en un tubo de cultivo. Se usó medio LB para cultivar la cepa durante la noche a 28°C a 18 rad/s (175 rpm). Se añadió glicerol al cultivo hasta 10 %, se mezcló y se dividió sobre crioviales Nalgene y se congeló a - 80 °C. Se almacenaron los stocks a - 80 °C en crioviales.

Para preparar un cultivo de siembra de *A. brasilense*, se descongeló un stock (1,2 a 1,8 ml) y se añadió a 1 litro de medio LB y se cultivó durante aproximadamente 20 h a 28°C y 18 rad/s (175 rpm) a una Densidad Óptica (DO 620 nm) de aproximadamente 2,5.

Se enjuagó un fermentador de 10 litros con agua y se calibró el electrodo de pH. Se prepararon nueve litros de medio LB y se añadieron 1 g/l de L-Triptófano y 0,1 g/l de IAA libre. Se introdujo el medio en el fermentador junto con 2 ml de antiespumante. Se esterilizó el fermentador durante 30 min a 121°C. Después de dejar enfriar a 28°C, se calibra la sonda de O₂ con N₂ and O₂, 0 y 100 % de saturación de aire, respectivamente.

Se transfiere el cultivo de siembra al fermentador vía un matraz y tubos que se esterilizan por separado en un autoclave. Cuando se completa la adición se retiran los tubos y el matraz y se inicia la fermentación con los siguientes parámetros:

Velocidad del agitador	42 rad/s (400 rpm)
Temperatura	28 °C
Aireación	0,75 NI/min
pH	7

Después de 15 min se toma una muestra para medir la DO 620 nm y se comprueba el pH. Se toman muestras a ciertos intervalos para cuantificar el crecimiento de *A. brasilense*. Cuando disminuyó la velocidad de crecimiento se añadió medio extra para asegurar que se formaba suficiente biomasa para la producción de IAA libre. Se encontró que la producción de IAA libre se iniciaba cuando terminaba la fase de crecimiento activo y continuaba durante un periodo prolongado. Se siguió el transcurso de la concentración de IAA libre mediante LC-MS. Cuando la concentración de IAA libre estuvo a un nivel de aproximadamente 1 g/l, término la fermentación y se recogieron las células y se lisaron mediante un homogeneizador monojet a aproximadamente 140 MPa (1.400 bar). El sobrenadante restante y las células listadas se esterilizaron y se secaron por atomización para proporcionar la formulación de producto deseada.

Ejemplo 2: Preparación de alimento que contiene beta-glucanos.

Una cantidad de 3,0 gramos de *Agaricus Blazei* Murill (*Agaricus* Farm), una fuente natural de beta-glucanos fue suspendida en 100 ml de aceite de oliva. Se preparó un alimento para peces impregnando a vacío un kilogramo de alimento flotante de (Coppens) Cyprico White comercialmente disponible 3 mm con 100 ml de la suspensión de aceite. Se preparó alimento de control impregnando a vacío la misma cantidad de alimento con sólo aceite de oliva.

Ejemplo 3: Preparación de alimento que contiene hormonas para crecimiento de las plantas.

Una cantidad de la formulación secada por atomización como se describe en el ejemplo 1 que corresponde a 12 miligramos de IAA libre se suspendió en 100 ml de aceite de oliva. Se preparó un alimento para peces impregnando a vacío un kilogramo de alimento flotante de (Coppens) Cyprico White comercialmente disponible 3 mm con 100 ml de la suspensión de aceite. Se preparó alimento de control impregnando a vacío la misma cantidad de alimento con sólo aceite de oliva.

Ejemplo 4: Preparación de alimento que contiene tanto beta-glucanos como hormonas para crecimiento de las plantas.

Una cantidad de 3,0 gramos de *Agaricus Blazei* Murill (ABM, *Agaricus* Farm), una fuente natural de beta-glucanos y una cantidad de la formulación secada por atomización como se describe en el ejemplo 1 que corresponde a 12 miligramos de IAA libre se suspendieron en 100 ml de aceite de oliva. Se preparó un alimento para peces impregnando a vacío un kilogramo de alimento flotante de (Coppens) Cyprico White comercialmente disponible 3 mm con 100 ml de la suspensión de aceite. Se preparó alimento de control impregnando a vacío la misma cantidad de alimento con sólo aceite de oliva.

Ejemplo 5: Uso de alimento para peces que comprende beta-glucanos y hormonas para crecimiento de las plantas para prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces.

Se usaron cuatro estanques de 40 metros cúbicos cada uno, todos contenían 50 peces koi con un peso corporal total aproximado de 50 kg para mostrar la eficacia del alimento para peces. Un estanque sirvió como un control en el que se alimentaron los peces con alimento de control, los peces en los otros estanques recibieron un alimento como se preparó en los ejemplos 2 a 4 anteriores. El experimento empezó cuando la temperatura del agua fue aproximadamente 2 grados Celsius.

Se alimentaron los peces en el estanque de control con 10 gramos de alimento flotante Cyprico White 3 mm al día, mientras los peces en el otro estanque se alimentaron con 10 gramos de los alimentos como se describió en el Ejemplo 2, 3 y 4, Tabla 1).

Se observó que los peces en los grupos de ensayo nadaban a la superficie y empezaban a comer el alimento mientras el grupo de control no mostraba signo de actividad. Este efecto aumentó gradualmente cada día hasta que después de 5 días los peces eran completamente móviles, mientras la temperatura del agua aún estaba entre 2 y 3 grados Celsius. La movilidad de los peces se puntuó sobre un índice relativo de 1 a 5 en el que 1 es completamente inmóvil y 5 es completamente móvil, Tabla 2). El agua en el estanque de control estaba a exactamente la misma temperatura que la de los otros estanques, sin embargo los peces en el estanque de control estaban completamente inmóviles. Después de cuatro semanas, cuando la temperatura del agua se elevó gradualmente a 6 grados Celsius, no se observaron efectos secundarios adversos en el grupo de ensayo. Los peces estaban sanos y completamente móviles mientras que el grupo de control estaba casi completamente inmóvil.

Tabla 1

	Aditivo alimentario
Estanque 1	2,4 ug/kg/p/día de IAA libre
Estanque 2	600 ug/kg/p/día de ABM
Estanque 3	2,4 ug/kg/p/día de IAA libre más 600 ug/kg/p/día de ABM
Estanque 4 (control)	ninguno

Tabla 2

Día	Temperatura [grados Celsius]	Movilidad Estanque 1	en	Movilidad Estanque 2	en	Movilidad Estanque 3	en	Movilidad Estanque 4	en
1	2	1		1		1		1	
2	2	1		1		2		1	
3	3	1		1		2		1	
4	3	2		2		2		1	
5	3	2		2		3		1	
8	3	3		1		2		1	
12	3	2		2		3		1	
16	4	2		2		4		1	
20	5	3		3		4		1	

Día	Temperatura [grados Celsius]	Movilidad Estanque 1	en	Movilidad Estanque 2	en	Movilidad Estanque 3	en	Movilidad Estanque 4	en
24	5	4		4		5		2	
28	6	4		4		5		2	

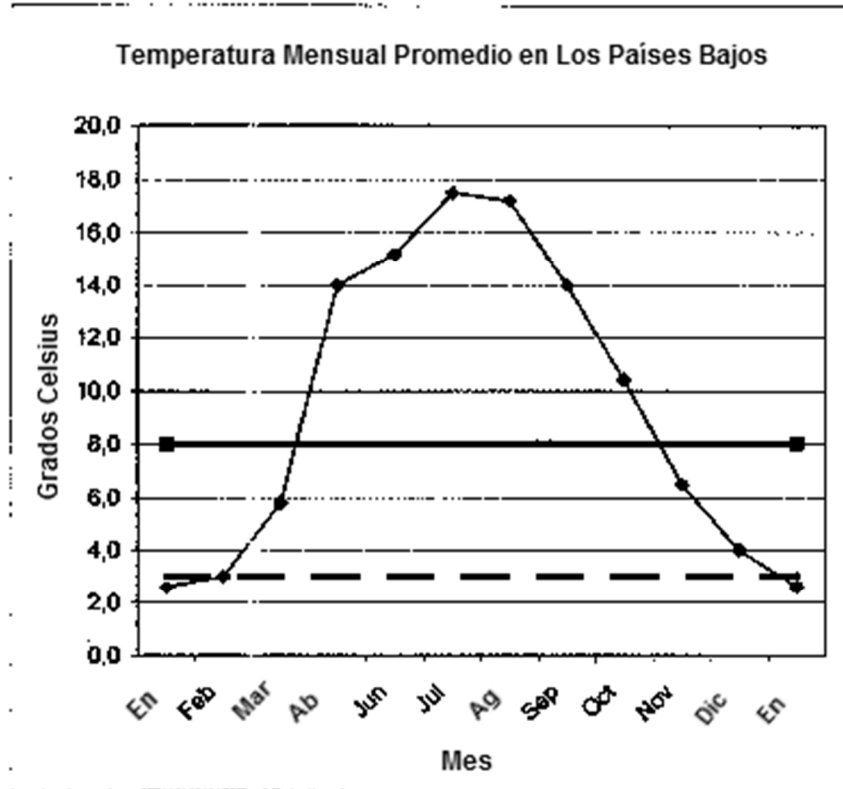
La Tabla 2 muestra la relación entre movilidad de los peces expresada sobre una escala de 1 a 5 (1 es completamente inmóvil, 5 es completamente móvil) y la temperatura del agua en el estanque. Se alimentaron los peces en los estanques 1, 2 y 3 con alimento para peces según los ejemplos anteriores, los peces en el estanque 4 recibieron alimento de control. Se describen más detalles en los ejemplos.

5

REIVINDICACIONES

1. Uso de un alimento para peces que comprende entre 0,015 y 150 gramos de beta-glucanos y/o entre 0,3 y 3.000 miligramos de fitohormonas por kilogramo de alimento para prolongar el periodo de movilidad estacional de los peces.
- 5 2. Uso según la reivindicación 1, en el que el alimento para peces comprende entre 0,015 y 15 gramos, preferiblemente entre 0,1 y 1 gramo de beta-glucanos por kilogramo de alimento.
3. Uso según las reivindicaciones 1 ó 2, en el que los beta-glucanos comprenden 1,3 y/o 1,6 beta-glucanos.
4. Uso según las reivindicaciones 1 - 3, en el que la fitohormona se selecciona del grupo que consiste en: ácido indol-3-acético, citocinina, giberelina, ácido giberélico, etileno, ácido abscísico, brasinoesteroides, ácido jasmónico y ácido salicílico.
- 10 5. Uso según las reivindicaciones 1 - 4, en el que el alimento para peces comprende entre 3 y 300 miligramos, preferiblemente entre 5 y 100 miligramos de fitohormonas por kilogramo de alimento.
6. Uso según las reivindicaciones 1 - 5, en el que la fitohormona es IAA libre.
7. Uso según la reivindicación 6, en el que los peces se alimentan con IAA libre en un intervalo de 0,02 y 240 microgramos por kilogramo de peso vivo al día.
- 15 8. Uso según las reivindicaciones 1 - 5, en el que la fitohormona es ácido giberélico.
9. Uso según las reivindicaciones 1 - 8, en el que los peces se alimentan con 0,1 a 2.000 microgramos por kilogramo de peso vivo al día de 1,3 y 1,6 beta-glucanos.
10. Uso según las reivindicaciones 1 - 5 ó 7 - 9, en el que los peces se alimentan con giberelina o ácido giberélico en un intervalo de 0,002 y 20 microgramos por kilogramo de peso vivo al día.
- 20 11. Alimento para peces que comprende entre 0,015 y 150 gramos de beta-glucanos y entre 0,5 y 6.000 miligramos de IAA libre por kilogramo de alimento.

Figura 1



—————

Temperatura mínima a la que los peces koi llegan a ser móviles (puntuación 3 en tabla 2) sin el alimento para peces según los ejemplos

- - - - -

Temperatura mínima a la que los peces koi llegan a ser móviles (puntuación 3 en tabla 2) con el alimento para peces según los ejemplos.