(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **1-0032617**

(51)[8] **A01K 61/10**

(13) **B**

(21) 1-2018-01761

(22) 24/04/2018

(45) 25/07/2022 412

(43) 25/10/2019 379A

(73) 1. GALLANT OCEAN INTERNATIONAL, INC. (TW)
No. 5, Yongguang Street, Xiaogang District, Kaohsiung, Taiwan
2. Chien-Hsien KUO (TW)
8F.-2, No. 108, Yajhu Rd., East Dist., Chiayi City, Taiwan

(72) Chien-Hsien KUO (TW); Yueh-Yuan HSU (TW); Chung-Jian HUANG (TW).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) PHƯƠNG PHÁP GÂY RA SỰ BIỂU HIỆN TÍNH CÁI Ở CÁ RÔ PHI XANH BẰNG CÁCH NGÂM VỚI ETINYL ESTRADIOL

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh bao gồm bước cho cá rô phi xanh ở độ tuổi từ 1 đến 3dph đi ngâm với etinyl estradiol có nồng độ nằm trong khoảng từ 142 đến 200ppm trong 1 đến 3 phút.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh (Tilapia aurea), và cụ thể hơn là đề cập đến phương pháp gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh bằng cách sử dụng quá trình ngâm với etinyl estradiol.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cá rô phi là loại cá nước ngọt thuộc họ Cichlidae, và do nó có các ưu điểm là sinh trưởng nhanh, tốc độ sinh sản cao, khả năng thích nghi tốt, và bản tính ăn tạp, nên cá rô phi đã trở thành loài cá được thu hoạch đứng hàng đầu thế giới trong ngành công nghiệp thủy sản. Loài cá rô phi phổ biến đối với nghề nuôi cá bao gồm *Oreochromis niloticus* (còn được gọi là cá rô phi sông Nile (Nile tilapia)) và *Oreochromis aureus* (còn được gọi là cá rô phi xanh (Tilapia aurea)).

Khi cá rô phi đực và cá rô phi cái được nuôi cùng với nhau, tốc độ sinh trưởng của chúng chậm lại do sự tiêu thụ năng lượng được gây ra bởi sự sinh sản tự nhiên. Ngoài ra, sự gia tăng số lượng cá rô phi con do sự sinh sản tự nhiên làm cho mật độ cá trong ao nuôi trồng thủy sản trở nên quá cao, điều này dẫn đến đình trệ sự sinh trưởng. Do vậy, để giải quyết vấn đề này, sự nuôi trồng đơn tính được sử dụng rộng rãi trong quá trình nuôi cá rô phi. Trong quá trình nuôi trồng đơn tính, tốc độ sinh trưởng và trọng lượng của các đực gấp đôi so với các cái. Như vậy, mục đích chính của lĩnh vực này là gia tăng sản lượng của cá rô phi đực.

Mặc dù cá rô phi xanh đực Tilapia aurea có kích thước tương đối nhỏ, khi cá rô phi xanh đực Tilapia aurea (ZZ♂) giao phối với cá rô phi cái sông Nile (XX♀)(sự lai giữa các loài), thì thu được lứa lai toàn giống đực của cá rô phi (XZ♂) có kích thước tương đối lớn. Do vậy, có nhu cầu phát triển phương pháp gia tăng sản lượng cá rô phi xanh con giống đực trong

ngành công nghiệp thủy sản.

Mặt khác, sự cung cấp estrogen để gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh đã được nghiên cứu. Tỷ lệ phần trăm của cá con giống đực có thể được gia tăng bằng cách cho cá rô phi xanh được biểu hiện tính cái thu được (ZZΔ♀) giao phối với cá rô phi xanh đực (ZZ♂). Ví dụ, như được bộc lộ trong Melard (1995), *Aquaculture*, 130:25-34, etinyl estradiol (còn được gọi là 17α-etynylestradiol) được hòa tan trong etanol 95%, và dung dịch thu được được bổ sung vào thức ăn cho cá để thu được thức ăn cho cá lần lượt chứa 100, 150 và 200mg/kg etinyl estradiol. Cá rô phi xanh con lần lượt được nuôi bằng ba loại thức ăn này trong 40 ngày. Các kết quả thử nghiệm đã cho thấy rằng tỷ lệ biểu hiện tính cái (nghĩa là, tỷ lệ phần trăm giống cái) của cá rô phi xanh thu được bằng cách gây ra sự biểu hiện tính cái với 100, 150, và 200mg/kg etinyl estradiol lần lượt là 94%, 93% và 98%. Theo tài liệu Melard, cá rô phi xanh biểu hiện tính cái tiếp tục được cho giao phối với cá rô phi xanh đực, và tỷ lệ phần trăm của cá con giống đực thu được nằm trong khoảng từ 68% đến 100%. Vì tỷ lệ phần trăm của cá con giống đực thay đổi trong khoảng đáng kể, nên cá rô phi xanh con giống đực chưa được sản sinh theo cách hiệu quả nhất.

Việc gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh bằng cách cho cá ăn estrogen đòi hỏi thời gian dài, và có thể bị ảnh hưởng một cách tiêu cực do có vị kém ngon và sự phân bố estrogen không đồng đều, vì vậy khó bảo đảm rằng tất cả cá con thu nạp đủ lượng estrogen. Do vậy, có nhu cầu về sự phát triển phương pháp gây ra sự biểu hiện tính cái ổn định ở cá rô phi xanh một cách nhanh chóng và thuận tiện.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do vậy, mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh mà có thể giảm bớt ít nhất một nhược điểm trong số các nhược điểm liên quan đến giải pháp kỹ thuật trước đây.

Phương pháp bao gồm cho cá rô phi xanh ở độ tuổi từ 1 đến 3dph (days post-hatch _ ngày sau khi nở) đi xử lý ngâm với etinyl estradiol có

nồng độ nằm trong khoảng từ 142 đến 200ppm trong 1 đến 3 phút.

Mô tả chi tiết sáng chế

Cần hiểu rằng, nếu bất kỳ tài liệu công bố giải pháp kỹ thuật trước được viện dẫn ở đây, tài liệu tham khảo này không cấu thành sự thừa nhận rằng ấn phẩm này hình thành nên một phần kiến thức chung thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật này, ở Đài Loan hoặc bất kỳ quốc gia khác.

Trong bản mô tả này, nên hiểu rõ rằng từ "bao gồm (comprising)" có nghĩa là "gồm có nhưng không chỉ giới hạn ở đó", và từ " bao gồm (comprises)" có nghĩa tương ứng.

Trừ phi được định nghĩa khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này được hiểu theo nghĩa thông thường đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế liên quan. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ nhận ra nhiều phương pháp và vật liệu tương tự hoặc tương đương với phương pháp và vật liệu được đề cập trong bản mô tả này, mà có thể được sử dụng trong thực tiễn của sáng chế. Như vậy, sáng chế không bị giới hạn ở các phương pháp và vật liệu được sáng chế.

Để phát triển quy trình ngâm nhanh và thuận tiện để gây ra sự biểu hiện tính cái ổn định, người nộp đơn nhận thấy rằng ngâm cá rô phi xanh con ở độ tuổi cụ thể với etinyl estradiol có nồng độ nằm trong khoảng từ 142 đến 200ppm trong thời gian ngắn có hiệu quả khả quan trong việc gây ra sự biểu hiện tính cái.

Do vậy, sáng chế đề xuất phương pháp gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh, phương pháp này bao gồm bước cho cá rô phi xanh ở độ tuổi từ 1 đến 3dph (days post-hatch - ngày sau khi nở) đi xử lý ngâm với etinyl estradiol có nồng độ nằm trong khoảng từ 142 đến 200ppm trong 1 đến 3 phút.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, cá rô phi xanh được đem đi ngâm ở độ tuổi 3dph.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, nồng độ của etinyl estradiol là 200ppm.

Theo sáng chế, quá trình ngâm có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 30°C. Theo một phương án được lấy làm ví dụ của sáng chế, quá trình ngâm được thực hiện ở 25°C.

Theo sáng chế, cá rô phi xanh được biểu hiện tính cái (ZZΔ♀) (cụ thể là, thế hệ F1) thu được theo phương pháp của sáng chế có thể được cho giao phối với cá rô phi xanh đực kiểu hoang dại (ZZ♂) để thu lấy lứa cá rô phi xanh toàn giống đực (ZZ♂) (cụ thể là, thế hệ F2). Cá rô phi xanh toàn giống đực (ZZ♂) có thể được sử dụng trực tiếp làm thực phẩm, hoặc có thể được sử dụng để tạo ra lứa lai cá rô phi toàn giống đực (XZ♂) bằng quy trình sau đây. Trước tiên, cho cá rô phi sông Nile được chuyển thành giống đực (XXΔ♂) thu được nhờ sử dụng công nghệ thường được dùng trong lĩnh vực kỹ thuật này giao phối với cá rô phi sông Nile giống cái kiểu hoang dại (XX♀) để thu lứa cá rô phi sông Nile toàn giống cái (XX♀). Sau đó, lứa cá rô phi sông Nile toàn giống cái (XX♀) được cho giao phối với lứa cá rô phi xanh toàn giống đực (ZZ♂) (cụ thể là thế hệ F2), để thu lứa lai cá rô phi toàn giống đực (XZ♂) (cụ thể là, thế hệ F3).

Sáng chế sẽ được tiếp tục mô tả trong các ví dụ sau đây. Tuy nhiên, cần hiểu rằng các ví dụ sau đây chỉ nhằm mục đích minh họa, chứ không phải là giới hạn sáng chế trong thực tiễn.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Vật liệu thử nghiệm:

1. Cá rô phi xanh con ở độ tuổi 3dph

Cá rô phi xanh giống đực và giống cái (khoảng 12 tháng tuổi) được cung cấp bởi Prof. Chien-Hsien Kuo từ Department of Aquatic Biosciences at National Chiayi University (Taiwan) được dùng là cá cha mẹ trong ví dụ sau đây. Cá đực và cá cái được nuôi riêng trong các ao làm bằng bê tông được cấp nước được duy trì ở nhiệt độ 25°C và khoảng

6mg/L oxy hòa tan dưới ánh sáng tự nhiên, và được nuôi bằng thức ăn tùy ý. Quá trình giao phối được thực hiện với tỷ lệ giống đực so với giống cái là 2:5. Các trứng đã thụ tinh được phun ra từ khoang miệng của cá cái được thu gom, sau đó ủ ở 25°C trong 7 đến 14 ngày. Cá con 3dph được thu lấy.

Ví dụ 1. Gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh bằng cách ngâm với etinyl estradiol

Hai dung dịch ngâm lần lượt có nồng độ được thể hiện ở bảng 1 dưới đây được điều chế như sau. Lượng thích hợp của etinyl estradiol được hòa tan trong 10mL etanol, sau đó trộn với 5L nước trong bể nước.

5 thử nghiệm gây ra sự biểu hiện tính cái được tiến hành bằng cách sử dụng một trong số hai dung dịch ngâm nêu trên. Cụ thể, đối với từng thử nghiệm gây ra sự biểu hiện tính cái, cá rô phi xanh con ở độ tuổi 3dph (lượng của nó được thể hiện ở bảng 1) được cho vào trong dung dịch ngâm tương ứng ở 25°C trong 3 phút. Sau đó, cá con này được nuôi trong bể nước được trang bị dụng cụ làm giàu oxy. Sau bảy tháng nuôi, giới tính của tất cả các con cá sống sót được quan sát, và tỷ lệ biểu hiện tính cái (tức là, tỷ lệ phần trăm giống cái) được tính.

Kết quả:

Tỷ lệ biểu hiện tính cái thu được được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Nồng độ của etinyl estradiol, số lượng cá con, và tỷ lệ biểu hiện tính cái ở từng thử nghiệm

Thử nghiệm	Nồng độ etinyl estradiol (ppm)	Số lượng cá con	Tỷ lệ biểu hiện tính cái (%)
1	200	506	100
2		300	100
3		421	100
4		367	100
5	142,85	300	87

Như được thể hiện ở bảng 1, tỷ lệ biểu hiện tính cái của từng thử nghiệm là bằng hoặc cao hơn 87%. Cụ thể, khi nồng độ etinyl estradiol được dùng là 200ppm, có thể đạt được tỷ lệ biểu hiện tính cái lên đến 100%. Để so sánh, trong trường hợp mà không sử dụng estrogen để tiến hành quá trình gây ra sự biểu hiện tính cái, tỷ lệ biểu hiện tính cái của cá con nhờ sự giao phối giữa cá đực và cá cái theo lý thuyết là 50%. Kết quả thử nghiệm này cho thấy rằng quá trình ngâm sử dụng etinyl estradiol có nồng độ nằm trong khoảng từ 142,85 đến 200ppm có thể hữu hiệu để gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh con ở độ tuổi cụ thể trong thời gian ngắn.

Ngoài ra, người nộp đơn cũng cho cá rô phi xanh được biểu hiện tính cái thu được bằng cách ngâm với 200ppm etinyl estradiol (tức là, thu được từ ví dụ 1) giao phối với cá rô phi xanh đực ở tỷ lệ cá cái so với cá đực là 5:2, và tỷ lệ phần trăm cá con giống đực thu được là cao ngang với 95% đến 100%. Kết quả này thể hiện rằng cá rô phi xanh được biểu hiện tính cái thu được bằng cách sử dụng phương pháp gây ra sự biểu hiện tính cái theo sáng chế có thể được áp dụng để tạo ra cá rô phi xanh toàn giống đực theo cách hữu hiệu.

Tất cả các patent và các tài liệu chuyên ngành được viện dẫn trong bản mô tả sáng chế cũng như các tài liệu tham khảo được đề cập trong bản mô tả này, được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách tham khảo toàn bộ nội dung của chúng. Trong trường hợp có sự mâu thuẫn, bản mô tả sáng chế, gồm cả các định nghĩa, sẽ được sử dụng.

Trong phần mô tả nêu trên, vì mục đích giải thích, nhiều chi tiết cụ thể đã được đề cập để nhằm hiểu thấu đáo các phương án của sáng chế. Tuy nhiên, đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, sẽ rõ ràng hơn khi mà một hoặc nhiều phương án khác có thể được thực hiện mà không cần một số chi tiết cụ thể này. Cũng nên hiểu rằng xuyên suốt bản mô tả này, sự đề cập đến "một phương án" , "phương án" , phương án với

sự chỉ dẫn theo số thứ tự và vân vân có nghĩa là dấu hiệu cụ thể, cấu trúc cụ thể, hoặc đặc điểm cụ thể có thể nằm trong thực tiễn của sáng chế. Cũng nên hiểu rằng trong bản mô tả này, các dấu hiệu khác nhau đôi khi cùng được tập hợp lại trong một phương án riêng, hình vẽ, hoặc phần mô tả của nó để làm tinh gọn bản mô tả và giúp hiểu rõ hơn về các khía cạnh khác của sáng chế, và một hoặc nhiều dấu hiệu hoặc các chi tiết cụ thể từ một phương án có thể được tiến hành cùng với một hoặc nhiều dấu hiệu hoặc chi tiết cụ thể từ phương án khác, nếu thích hợp, trong thực tiễn của sáng chế.

Mặc dù sáng chế đã được mô tả đề cập đến những thứ mà được coi là các phương án được lấy làm ví dụ, cần hiểu rằng sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương án đã được bộc lộ mà còn bao hàm các sự điều chỉnh khác nằm trong tinh thần và phạm vi giải thích rộng nhất để bao hàm tất cả các sự thay đổi này và các sự điều chỉnh tương đương.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp gây ra sự biểu hiện tính cái ở cá rô phi xanh, bao gồm:

cho cá rô phi xanh ở độ tuổi từ 1 đến 3dph (days post-hatch_ngày sau khi nở) đi ngâm với etinyl estradiol có nồng độ nằm trong khoảng từ 142 đến 200ppm trong 1 đến 3 phút.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó cá rô phi xanh là ở độ tuổi 3dph.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó nồng độ của etinyl estradiol là 200ppm.

4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó quá trình ngâm được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 30°C.

5. Phương pháp theo điểm 4, trong đó quá trình ngâm được thực hiện ở 25°C.