



(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)



1-0036181

(51)⁷ A01N 27/00; A01P 7/04

(13) B

(21) 1-2018-05730

(22) 24/05/2017

(86) PCT/EP2017/062673 24/05/2017

(87) WO/2017/207408 07/12/2017

(30) 2016/5397 30/05/2016 BE

(45) 25/07/2023 424

(43) 25/09/2019 378A

(73) 1. VIB VZW (BE)

Rijvisschestraat 120, Gent, 9052 Belgium

2. Katholieke Universiteit Leuven (BE)

KU Leuven R&D Wanistraat 6, bus 5105, Leuven, 3000 Belgium

3. Globachem NV (BE)

Lichtenberglaan 2019, Sint-Truiden, 3800 Belgium

(72) Liesbeth Marie Renée ZWARTS (BE); Yannick Maria SNELLINGS (BE); Patrick Frans Karel CALLAERTS (BE); Lieven DENRUYTER (BE).

(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) PHƯƠNG PHÁP KIỂM SOÁT *DROSOPHILA SUZUKII*

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp kiểm soát *Drosophila suzukii* sử dụng chế phẩm chứa 9-tricosen làm chất kiểm soát sinh vật gây hại chống lại *Drosophila suzukii*, trong đó 9-tricosen ngăn cản sự ghép đôi. Hợp chất 9-tricosen có thể được sử dụng một mình hoặc được trộn với các hợp chất khác để kiểm soát *Drosophila suzukii* theo cách hiệu quả hơn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa 9-tricosen làm chất kiểm soát sinh vật gây hại chống lại *Drosophila suzukii*, trong đó 9-tricosen ngăn cản sự ghép đôi. Hợp chất 9-tricosen có thể được sử dụng một mình hoặc được trộn với các hợp chất khác để kiểm soát *Drosophila suzukii* theo cách hiệu quả hơn. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dụng cụ phân phối và các phương pháp phun 9-tricosen cụ thể.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Drosophila suzukii (Matsumura) (Lớp côn trùng - Insecta: Bộ côn trùng hai cánh - Diptera: Họ ruồi giấm - Drosophilidae), thường được gọi là ruồi cánh đỏm - *Drosophila*, là loài côn trùng xâm hại mạnh có nguồn gốc từ Đông Nam Á. Loài này được xếp vào loài gây hại bởi vì chúng sinh sản nhanh và có khả năng gây hại đến các loại quả mềm đang chín như quả anh đào, việt quất và dâu tây. Ruồi cái có khả năng xuyên thủng lớp vỏ của quả mềm bằng cơ quan đẻ trứng sắc nhọn của chúng rồi sau đó đẻ trứng vào bên trong. Điều này có thể làm giảm năng suất đến 80%, dẫn đến các thảm họa kinh tế tiềm ẩn.

Mặc dù *Drosophila suzukii* đã được ghi nhận là có mặt khắp Châu Mỹ và Tây Âu từ năm 2008, tuy nhiên chưa có một chiến lược quản lý dịch hại tổng hợp (integrated pest management - IPM) đặc thù loài rõ ràng nào được thực hiện. Nhiều chiến lược IPM tiềm năng như thu hút và tiêu diệt, bẫy hàng loạt và ngăn cản sự ghép đôi sử dụng pheromon. Tuy nhiên, chúng ta biết khá ít về pheromon ở *D. suzukii* và các kết quả thu được ở sinh vật mô hình được nghiên cứu nhiều như *Drosophila melanogaster* thường khác hoặc thậm chí còn trái ngược với các kết quả thu được ở *D. suzukii*. Pheromon chiếm ưu thế nhất trong tất cả các loại *Drosophila* là *Cis*-11-octadecenyl axetat (cVA)m, là một pheromon giới tính dễ bay hơi có tác dụng ngăn *Drosophila melanogaster* cVA được tạo ra bởi ruồi đực rồi được chuyển vào ruồi cái trong quá trình giao phối. Nhờ vậy, các ruồi đực *Drosophila* khác không tiếp cận cá thể ruồi cái này nữa. Tuy nhiên, người ta đã phát hiện ra rằng *Drosophila suzukii* không thực sự tạo ra cVA.

Do đó, vẫn cần phải tìm ra các sản phẩm mới, như pheromon, để kiểm soát sinh

vật gây hại *Drosophila suzukii*. Như được mô tả chi tiết dưới đây, tác dụng ngăn cản sự ghép đôi của 9-tricosen lên *Drosophila suzukii* chưa từng được công bố và đề xuất trong lĩnh vực kỹ thuật, và việc sử dụng hợp chất này như một hợp chất hữu ích với các lợi thế cụ thể so với các hợp chất ức chế thu hút côn trùng hiện có để kiểm soát loài này cũng chưa từng được công bố.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Có một điều ngạc nhiên rằng, 9-tricosen được phát hiện là có thể được sử dụng làm chất kiểm soát sinh vật gây hại và ngăn cản sự ghép đôi của *D. suzukii*. Do đó, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa 9-tricosen làm chất kiểm soát sinh vật gây hại chống lại *Drosophila suzukii*. Phát hiện này là đặc biệt ngạc nhiên, bởi vì 9-tricosen có công dụng rất khác ở *D. melanogaster*. Thực vậy, ruồi đục *Drosophila melanogaster* tạo ra pheromon 9-tricosen ngay khi được kích thích bằng giấm rượu táo có mùi thức ăn. Pheromon này có vai trò như pheromon kết tụ mạnh và làm tín hiệu định hướng rụng trứng. 9-tricosen đã được biết là có vai trò như pheromon kết tụ và tín hiệu định hướng rụng trứng đối với một số loài côn trùng khác, như ve và ruồi. Nói cách khác, 9-tricosen của *Drosophila suzukii* có tác dụng trái ngược hoàn toàn với những gì đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Ngoài ra, hợp chất 9-tricosen có thể được sử dụng một mình hoặc được trộn với các hợp chất khác để kiểm soát *Drosophila suzukii* theo cách thậm chí còn hiệu quả hơn. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất việc sử dụng dụng cụ phân phối và/hoặc phương pháp phun 9-tricosen, hữu ích trong việc kiểm soát *Drosophila suzukii* ở các loại cây trồng và môi trường khác nhau.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sau đây sẽ tham chiếu cụ thể đến các hình vẽ, cần lưu ý rằng các chi tiết được thể hiện bằng cách ví dụ và chỉ có mục đích minh họa các phương án khác nhau của sáng chế. Các chi tiết này được đưa ra để mô tả các nguyên lý và khía cạnh khái niệm của sáng chế một cách rõ ràng và dễ hiểu nhất. Điều này không có nghĩa là các chi tiết kỹ thuật của sáng chế được mô tả là cần thiết để hiểu cơ bản về sáng chế. Phần mô tả đi cùng hình vẽ giúp người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật hiểu rõ các dạng của sáng chế có thể được thực hiện trong thực tế.

Fig. 1: Ảnh hưởng của 6 loại hợp chất lên hành vi tán tỉnh (%) - CHC tán tỉnh

Fig. 1 thể hiện ảnh hưởng của 6 loại hợp chất lên sự xuất hiện của hành vi tán tỉnh của ruồi đực kiểu đại 4 ngày tuổi. (a) thể hiện ảnh hưởng của 6 loại hydrocarbon biểu bì (cuticular hydrocarbon - CH) được thử nghiệm lên sự xuất hiện của hành vi tán tỉnh của ruồi đực 4 ngày tuổi với ruồi cái 1 ngày tuổi được xúc mùi hương. (b) thể hiện ảnh hưởng của 6 loại CH lên sự xuất hiện của hành vi tán tỉnh của ruồi đực 4 ngày tuổi với ruồi đực 1 ngày tuổi được xúc mùi hương. (c) thể hiện ảnh hưởng của 6 loại CH lên sự xuất hiện của hành vi tán tỉnh của ruồi đực 4 ngày tuổi với ruồi cái 4 ngày tuổi được xúc mùi hương. (d) thể hiện ảnh hưởng của 6 loại CH lên sự xuất hiện của hành vi tán tỉnh của ruồi đực 4 ngày tuổi với ruồi đực 4 ngày tuổi được xúc mùi hương.

Fig. 2: Ảnh hưởng của 6 loại hợp chất lên hành vi tán tỉnh (#) - CHC tán tỉnh

Fig. 2 thể hiện ảnh hưởng của 6 loại hợp chất lên số lần nỗ lực tán tỉnh trung bình của ruồi đực kiểu đại 4 ngày tuổi. (a) thể hiện ảnh hưởng của 6 loại CH lên số lần nỗ lực tán tỉnh trung bình của ruồi đực 4 ngày tuổi với ruồi cái 1 ngày tuổi được xúc mùi hương. (b) thể hiện ảnh hưởng của 6 loại CH lên số lần nỗ lực tán tỉnh trung bình của ruồi đực 4 ngày tuổi với ruồi đực 1 ngày tuổi được xúc mùi hương. (c) thể hiện ảnh hưởng của 6 loại CH lên số lần nỗ lực tán tỉnh trung bình của ruồi đực 4 ngày tuổi với ruồi cái 4 ngày tuổi được xúc mùi hương. (d) thể hiện ảnh hưởng của 6 loại CH lên số lần nỗ lực tán tỉnh trung bình của ruồi đực 4 ngày tuổi với ruồi đực 4 ngày tuổi được xúc mùi hương.

Fig. 3: Ảnh hưởng của 6 hợp chất lên sự ghép đôi - CHC ghép đôi

Fig. 3 thể hiện ảnh hưởng của 6 loại hợp chất lên số lần giao phối giữa ruồi đực kiểu đại 4 ngày tuổi với ruồi cái 4 ngày tuổi được xúc mùi hương.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được mô tả ở trên, sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa 9-tricosen làm chất kiểm soát sinh vật gây hại chống lại *Drosophila suzukii*. Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa 9-tricosen để giảm sự sinh sản, cụ thể là qua việc ngăn cản ghép đôi, của *D. suzukii*. Theo một phương án được ưu tiên, 9-tricosen sau đây được

đề cập là (Z)-9-tricosen, còn được gọi là *cis*-9-tricosen.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa 9-tricosen có thể được sử dụng để kiểm soát *D. suzukii*. Theo một phương án khác, chế phẩm còn bao gồm một hoặc nhiều chất kiểm soát sinh vật gây hại khác, như thuốc trừ sâu, cụ thể là các chất kiểm soát sinh vật gây hại khác chống lại *D. suzukii*. Điều này cho phép kiểm soát *Drosophila suzukii* hiệu quả hơn ở các cây trồng khác nhau theo các cách khác nhau. Chất kiểm soát sinh vật gây hại thích hợp khác được sử dụng kết hợp trong chế phẩm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, a) thuốc trừ sâu (như xyantraniliprol, spinosad, λ -cyhalothrin, axetamiprit) b) chất thu hút được sử dụng để kiểm soát hoặc bẫy hàng loạt (ví dụ hỗn hợp giấm rượu táo) hoặc c) thuốc trừ rệp. Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất hỗn hợp 9-tricosen và 7-tricosen (cụ thể là (Z)-7-tricosen), được sử dụng như được mô tả trong bản mô tả này.

Chế phẩm có thể bao gồm các thành phần bổ sung, như một hoặc nhiều dung môi và/hoặc chất ổn định. Theo một phương án cụ thể, chế phẩm chứa dung môi khan, cụ thể là được chọn từ nhóm bao gồm hydrocarbon, alcohol, xeton, ete và este. Theo một phương án cụ thể, dung môi được chọn từ nhóm bao gồm n-hexan, n-pentan, axetone và dầu parafin.

Theo một phương án cụ thể, chế phẩm chứa 9-tricosen được sử dụng làm chất tạo lỏng. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chất nền rắn đã được tẩm 9-tricosen để sử dụng như được mô tả trong bản mô tả này. Theo một phương án khác nữa, sáng chế sử dụng dụng cụ phân phối chứa 9-tricosen. Ví dụ, 9-tricosen có thể được phân tán bằng dụng cụ phân phối có khả năng phân phối 9-tricosen liên tục hoặc theo thời gian, phụ thuộc vào số lượng *Drosophila suzukii* ở cánh đồng hoặc nhà kính. Ngoài ra, 9-tricosen được bào chế để có thể dễ sử dụng bằng cách phun tiêu chuẩn. Do đó, theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất phương pháp kiểm soát *D. suzukii*, bao gồm bước phun chế phẩm chứa 9-tricosen lên cây trồng hoặc một bộ phận của cây trồng. Ví dụ, chế phẩm 9-tricosen có thể được phun lên cây ăn quả hoặc thực vật để chống lại *D. suzukii*. Ngoài ra, 9-tricosen có thể được phủ trực tiếp lên quả đang chín hoặc đã chín. Khu vực phủ được ưu tiên là các cánh đồng nông nghiệp và nhà kính, mặc dù sáng chế cũng có thể được phủ ở các khu lưu trữ trái cây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Bắt các cá thể ruồi *Drosophila suzukii* trưởng thành trong tự nhiên (Sint-Truiden, Limburg, Belgium). Nuôi chúng trong khu cách ly ở nhiệt độ 21°C trên môi trường bột ngô-sucroza-nấm men-thạch.

Thu thập tất cả cá thể ruồi trong 12 giờ sau khi nở, rồi sử dụng chúng làm mẫu một ngày tuổi hoặc nuôi thêm đến bốn ngày tuổi. Nuôi tách riêng theo giới tính các cá thể ruồi chưa có kỹ năng xã hội bốn ngày tuổi, trái ngược với các cá thể ruồi có kỹ năng xã hội được nuôi cùng các cá thể khác giới tính.

Ví dụ 2

Mua N-hexan (95%), n-heneicosan (98%), n-tricosan (98%), (Z)-7-tricosen (98%) và (Z)-9-tricosen (97%) từ Thermo-Fischer và Sigma Aldrich. Tổng hợp (Z)-5-tricosen (99%) và 2-metyloctacosan (95%), công việc này được thực hiện bởi công ty Ecosynth (Gent, Belgium). Hòa tan các hợp chất trên trong n-hexan (95%) rồi quét lên bụng của ruồi *Drosophila suzukii* bằng bút vẽ số 2. Xức hương thơm cho ruồi bốn ngày tuổi 24 giờ trước khi thử nghiệm, và cho ruồi một ngày tuổi 1 giờ trước khi thử nghiệm.

Ví dụ 3

Thực hiện các thí nghiệm hành vi trong phòng có nhiệt độ được điều chỉnh (21°C) và luôn thực hiện tại thời điểm giống nhau (10 giờ 30 phút). Cho ruồi *Drosophila suzukii* được xức hương thơm ở riêng với ruồi đực *Drosophila suzukii* một ngày tuổi kiểu đại trong một khu vực tròn (3 cm). Ghi hình mỗi cặp trong hai giờ, do loài này hoạt động tốc độ thấp, nên sử dụng Sony Handycams CX240. Sau đó phân tích các băng ghi hình này về hành vi tán tỉnh và giao phối dựa theo Mazzoni *et al.* 2013 (Plos One 8(11): e80708). Phân tích các dữ liệu hành vi bằng bảng ngẫu nhiên và thử nghiệm t, cũng như các thử nghiệm ANOVA một chiều đối với dữ liệu liên tục.

Ví dụ 4

Thực hiện các thí nghiệm như sau. Bốn loại điều kiện khác nhau của ruồi được

xúc hương thơm bao gồm: ruồi cái một ngày tuổi, ruồi đực một ngày tuổi, ruồi cái bốn ngày tuổi và ruồi đực bốn ngày tuổi. Ghép cặp các cá thể ruồi này với ruồi đực bốn ngày tuổi. Ghi nhận các hành vi tán tỉnh cũng như giao phối. Sử dụng đối chứng là dung môi cho hương thơm (n-hexan). Các đối chứng được xúc n-hexan không cho thấy ảnh hưởng của các điều kiện nêu trên lên hành vi tán tỉnh cũng như giao phối.

Sáu loại hydrocarbon biểu bì được thử nghiệm bao gồm: n-heneicosan, n-tricosan, (Z)-5-tricosen, (Z)-7-tricosen, (Z)-9-tricosen và 2-metyloctacosan. Khi xem xét ảnh hưởng của các hợp chất được chọn này lên số lần tán tỉnh, không tìm thấy sự khác nhau đáng kể ở cả bốn điều kiện được thử nghiệm (Fig. 1). Điều này có nghĩa là không có hợp chất nào trong các hợp chất này dường như có ảnh hưởng đến việc bắt đầu sự tán tỉnh.

Mặc dù sự xuất hiện của hành vi tán tỉnh không thay đổi theo bất kỳ CH được thử nghiệm nào, tuy nhiên vẫn có thể thay đổi số lần tán tỉnh. Tuy nhiên, việc phân tích cho thấy rằng số lần tán tỉnh đã xảy ra không bị thay đổi theo bất kỳ CH được thử nghiệm nào trong bốn điều kiện thử nghiệm đã nêu (Fig. 2).

Ngoài ra, điều này không loại trừ các ảnh hưởng có thể có khác lên sự xuất hiện hành vi giao phối. Bởi vì việc giao phối có thể chỉ xảy ra giữa các cá thể đực và cá thể cái trưởng thành hoàn toàn, các cá thể cái bốn ngày tuổi được xúc hương thơm được ghép cặp với cá thể đực bốn ngày tuổi. Cả 7-tricosen và 9-tricosen đều làm giảm đáng kể sự giao phối (Fig. 3). Do đó, 9-tricosen có tác dụng như chất ức chế ghép đôi và hữu ích trong việc kiểm soát *D. suzukii*.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp kiểm soát *Drosophila suzukii*, phương pháp này bao gồm bước:
phủ chế phẩm chứa 9-tricosen lên cây trồng hoặc một phần của cây trồng bị ảnh hưởng bởi *Drosophila suzukii*.
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó 9-tricosen ngăn cản sự ghép đôi của *Drosophila suzukii*.
3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó chế phẩm còn chứa một hoặc nhiều chất kiểm soát sinh vật gây hại bổ sung mà kiểm soát *Drosophila suzukii*.
4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó chế phẩm còn chứa 7-tricosen.
5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước phủ bao gồm việc phun chế phẩm từ dụng cụ phân phối.
6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó cây trồng bao gồm quả đang chín hoặc đã chín.
7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó cây trồng trên cây ăn quả hoặc cây ở cánh đồng nông nghiệp, nhà kính, hoặc khu lưu trữ trái cây.

Fig.1

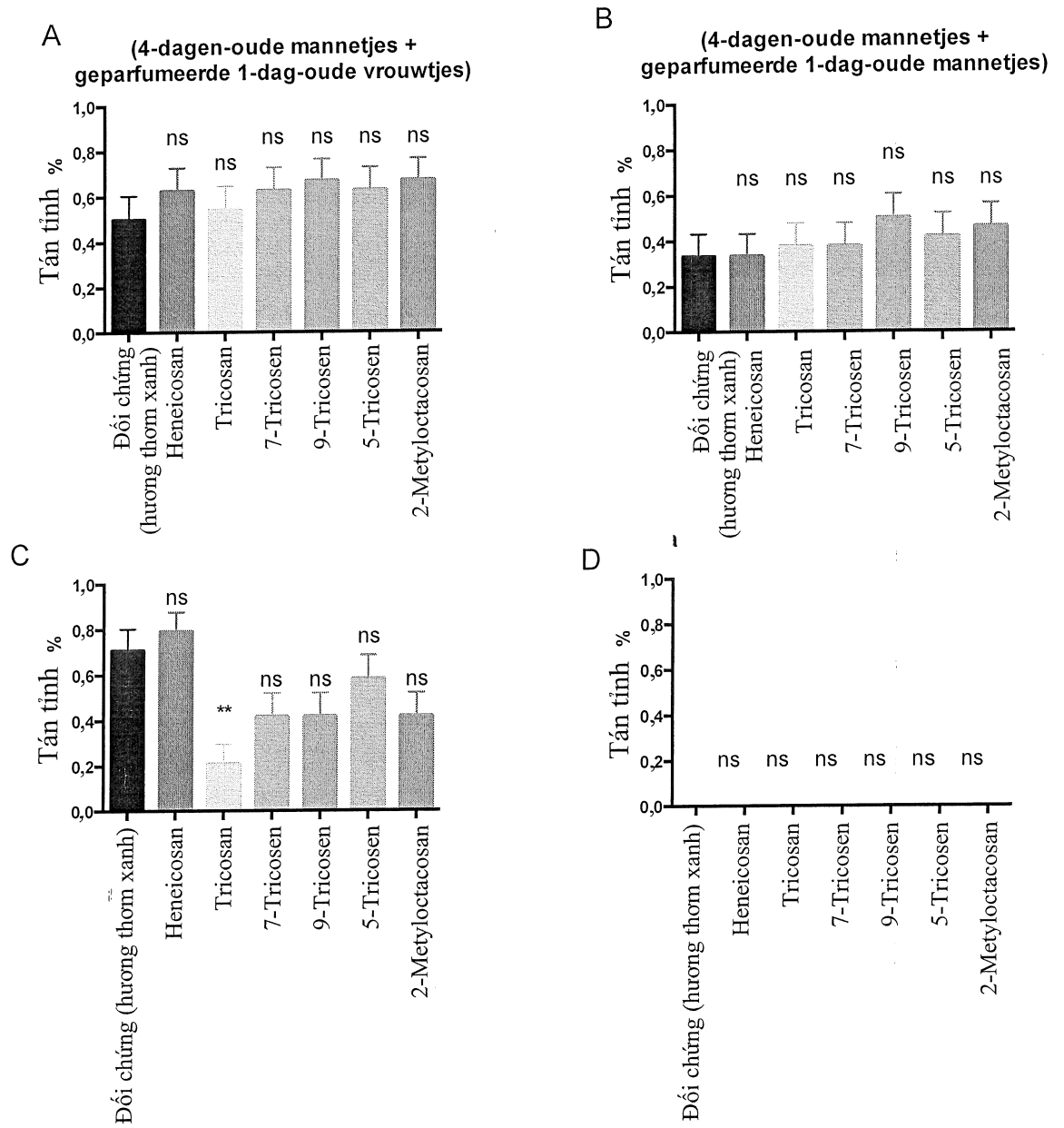


Fig.2

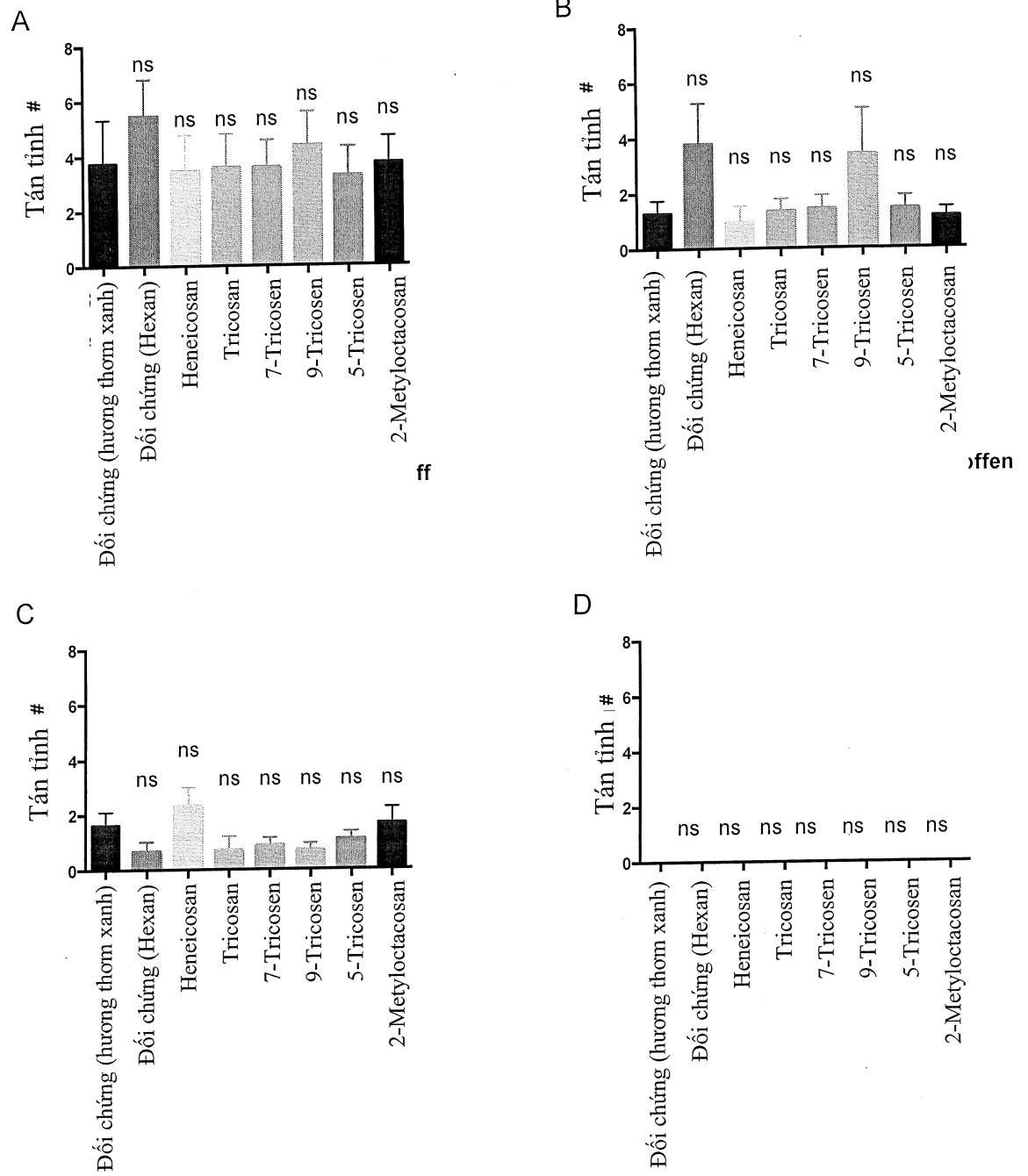


Fig. 3:

