**CHƯƠNG 4: ỨNG DỤNG DI TRUYỀN HỌC VÀO CHỌN GIỐNG**

**A. KIẾN THỨC TRỌNG TÂM VÀ CHUYÊN SÂU**

\* Quy trình tạo giống mới gồm có 4 bước:

- Tạo nguồn nguyên liệu di truyền cung cấp cho chọn lọc.

- Chọn lọc để tạo ra giống mới.

- Đánh giá chất lượng giống.

- Đưa giống tốt ra sản xuất đại trà.

\* Để tạo nguồn nguyên liệu, các nhà chọn giống có thể thu thập vật liệu ban đầu từ tự nhiên và nhân tạo, sau đó tạo ra các biến dị di truyền (biến dị tổ hợp, đột biến, ADN tái tổ hợp) để chọn lọc.

**CÁC PHƯƠNG PHÁP TẠO GIỐNG MỚI:**

Năng suất giống do kiểu gen của giống quy định, vì vậy muốn tạo ra giống mới có năng suất cao thì phải tác động làm thay đổi kiểu gen của giống cũ theo hướng mong muốn. Để tạo ra giống mới, đầu tiên phải tạo ra nguồn biến dị di truyền (đột biến; biến dị tổ hợp; ADN tái tổ hợp) sau đó chọn lọc để tạo ra được các giống mới. Do vậy có 4 phương pháp tạo ra giống mới là tạo giống bằng nguồn biến dị tổ hợp, bằng gây đột biến, bằng công nghệ tế bào và bằng công nghệ gen.

**1. Tạo giống thuần dựa trên nguồn biến dị tổ hợp**

Tạo dòng thuần chủng có kiểu gen khác nhau bằng cách cho tự thụ phấn (hoặc giao phối cận huyết) liên tục nhiều đời, sau đó chọn lọc thì sẽ thu được dòng thuần chủng về tính trạng mong muốn.

Phương pháp:

- Lai giống để tạo ra các tổ hợp gen khác nhau.

- Chọn lọc ra những tổ hợp gen mong muốn.

- Những tổ hợp gen mong muốn sẽ cho tự thụ phấn hoặc giao phối gần để tạo ra các dòng thuần.

**2. Tạo giống có ưu thế lai cao**

*a. Khái niệm:*

- Ưu thế lai là hiện tượng con lai có năng suất, sức chống chịu, khả năng sinh trưởng và phát triển cao vượt trội so với các dạng bố mẹ.

- Khi lai hai dòng thuần có kiểu gen khác nhau thì xuất hiện ưu thế lai. Có trường hợp phép lai thuận không tạo ra ưu thế lai nhưng phép lai nghịch lại tạo ra ưu thế lai.

- Ưu thế lai biểu hiện cao nhất ở F1, sau đó giảm dần qua các thế hệ.

*b. Cơ sở di truyền của ưu thế lai:* Có nhiều giả thuyết giải thích cơ sở di truyền của ưu thế lai, trong đó giả thuyết siêu trội được nhiều người thừa nhận. Giả thuyết này cho rằng ở trạng thái dị hợp về nhiều cặp gen khác nhau, con lai có được kiểu hình vượt trội nhiều mặt so với dạng bố mẹ có nhiều gen ở trạng thái đồng hợp tử.

*c. Quy trình tạo giống có ưu thế lai cao:*

- Tạo dòng thuần (bằng cách cho tự thụ phấn hoặc giao phối cận huyết liên tục nhiều đời).

- Cho lai các dòng thuần khác nhau (lai khác dòng đơn, lai khác dòng kép), sau đó chọn lọc các tổ hợp lai có ưu thế lai cao.

**3. Tạo giống bằng phương pháp gây đột biến**

Gồm 3 bước:

- Xử lí mẫu vật bằng các tác nhân gây đột biến để tạo ra biến dị đột biến.

- Chọn lọc các thể đột biến có kiểu hình mong muốn.

- Tạo dòng thuần chủng.

**4. Tạo giống bằng công nghệ tế bào**

a. Công nghệ tế bào là quy trình công nghệ dùng để tạo ra những tế bào có kiểu nhân mới từ đó tạo ra cơ thể với những đặc điểm mới, hoặc hình thành cơ thể không bằng sinh sản hữu tính mà thông qua sự phát triển của tế bào xôma nhằm nhân nhanh các giống vật nuôi, cây trồng.

b. Công nghệ tế bào thực vật:

- Lai tế bào sinh dưỡng: Gồm các bước:

+ Loại bỏ thành tế bào trước khi đem lai.

+ Cho các tế bào đã mất thành của 2 loài vào môi trường đặc biệt để dung hợp với nhau → tế bào lai.

+ Đưa tế bào lai vào nuôi cấy trong môi trường đặc biệt cho chúng phân chia và tái sinh thành cây lai khác loài.

- Nuôi cấy hạt phấn hoặc noãn, sau đó gây lưỡng bội hoá:

+ Nuôi cấy hạt phấn hoặc noãn chưa thụ tinh trong ống nghiệm rồi cho phát triển thành dòng đơn bội (n).

+ Tế bào đơn bội được nuôi trong ống nghiệm với các hoá chất đặc biệt → phát triển thành mô đơn bội → xử lí hoá chất cônsesin để gây lưỡng bội hoá thành cây lưỡng bội hoàn chỉnh. Cây lưỡng bội được tạo ra bằng cách này có kiểu gen đồng hợp về tất cả các cặp gen.

c. Công nghệ tế bào động vật:

- Nhân bản vô tính:

+ Tách tế bào tuyến vú của cá thể cho nhân và nuôi trong phòng thí nghiệm; tách tế bào trứng của cá thể khác và loại bỏ nhân của tế bào này.

+ Chuyển nhân của tế bào tuyến vú vào tế bào trứng đã loại nhân.

+ Nuôi cấy tế bào đã chuyển nhân trên môi trường nhân tạo cho trứng phát triển thành phôi.

+ Chuyển phôi vào tử cung của cơ thể mẹ để mang thai và sinh con.

- Cấy truyền phôi:

+ Lấy phôi, sau đó tách phôi thành hai hay nhiều phần, mỗi phần sẽ phát triển thành một phôi riêng biệt.

+ Cấy các phôi vào động vật nhận (con cái) và sinh con.

**5. Công nghệ gen**

**a. Khái niệm công nghệ gen:** Công nghệ gen là một quy trình công nghệ dùng để tạo ra những tế bào và sinh vật có gen bị biến đổi hoặc có thêm gen mới, từ đó tạo ra cơ thể với những đặc điểm mới.

**b. Quy trình:** Tạo ADN tái tổ hợp; Đưa ADN tái tổ hợp vào trong tế bào nhận;

Phân lập dòng tế bào chứa ADN tái tổ hợp.

**c. Ứng dụng công nghệ gen trong tạo giống biến đổi gen:**

- Trong tạo giống động vật: cừu sản sinh prôtêin người, chuột nhắt chứa gen hoocmôn sinh trưởng của chuột cống,...

- Tạo giống thực vật: Giống bông kháng sâu hại, giống lúa có khả năng tổng hợp β - carôten, giống cà chua mang gen kéo dài thời gian chín,....

- Tạo giống vi sinh vật: Tạo dòng vi sinh vật biến đổi gen (vi khuẩn có khả năng sản suất insulin của người, sản suất HGH...).

**B. CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP**

**Câu 1:** Nêu những khó khăn và cách khắc phục khi chuyển gen của sinh vật nhân

thực vào trong tế bào vi khuẩn?

***Hướng dẫn trả lời***

- Những khó khăn:

+ Hầu hết gen của sinh vật nhân thực là gen phân mảnh cho nên khi chuyển vào tế bào vi khuẩn thì sau khi phiên mã không có giai đoạn biến đổi mARN nên các đoạn intron cũng được dịch mã, do đó phân tử prôtêin có cấu trúc không giống với phân tử prôtêin mong muốn.

+ Gen của sinh vật nhân thực có vùng promoter (vùng khởi động) khác với vùng promoter của gen vi khuẩn nên enzym ARN polimeraza của tế bào vi khuẩn thường khó có thể phiên mã được gen được chuyển vào nên gen sau khi chuyển thường không được phiên mã để sinh tổng hợp prôtêin.

- Cách khắc phục:

+ Gen được chuyển vào vi khuẩn không có intron (do các đoạn intron được cắt bỏ hoặc do được phiên mã ngược từ mARN trưởng thành).

+ Gen được chuyển vào sẽ có vùng promoter của vi khuấn để enzym ARN pôlimeraza dễ dàng liên kết và khởi động phiên mã.

**Câu 2:** Trong các công nghệ tế bào được sử dụng trong tạo giống, loại công nghệ nào không tạo được giống mới? Giải thích.

***Hưởng dẫn trả lời***

Công nghệ nhân bản vô tính, cấy truyền phôi và nhân giống vô tính là những công nghệ không tạo được giống mới. Nguyên nhân là vì sự hình thành giống mới gắn liền với sự hình thành kiểu gen mới.

- Nhân bản vô tính ở động vật là quá trình nhân lên các cá thể có kiểu gen quý hiếm mà không làm thay đổi kiểu gen của cơ thể cho nhân. Vì vậy không tạo được giống mới.

- Cấy truyền phôi là hiện tượng một phôi được tách ra thành nhiều nhóm tế bào, mỗi nhóm tế bào phát triển thành một phôi và cấy phôi vào tử cung của con cái để phôi phát triển thành cơ thể. Cấy truyền phôi chỉ giúp nhân nhanh giống động vật quý hiếm mà không tạo được giống mới.

- Nhân giống vô tính của thực vật bằng nuôi cấy mô cũng không tạo ra giống mới mà nó chỉ tạo ra số lượng lớn cá thể có kiểu gen giống nhau.

**Câu 3:** Trong chọn giống động vật, người ta cho con đực tốt nhất giao phối với con cái tốt nhất được F1, sau đó cho các cá thể tốt nhất ở đời F1 giao phối với nhau được F2, cho các cá thể tốt nhất ở đời F2 giao phối với nhau được F3, quá trình cứ tiếp diễn như vậy cho đến đời thứ 5, hoặc đời thứ 6. Quá trình cho lai này có ý nghĩa gì?

***Hướng dẫn trả lời***

Quá trình này được gọi là lai cải tiến giống. Người ta thường sử dụng giống đực ngoại có năng suất cao để cải tiến giống nội có năng suất thấp.

Quá trình lai nói trên sẽ tạo ra được giống thuần về tính trạng của con đực nhưng lại mang các đặc tính tốt của giống cái như khả năng chống chịu với điều kiện tự nhiên.

**Câu 4:** Nuôi cấy hạt phấn của cây có kiểu gen AabbDdEE thành các dòng đơn bội, sau đó lưỡng bội hóa tạo thành các dòng lưỡng bội thuần chủng.

a. Sẽ tạo ra được bao nhiêu dòng thuần chủng từ cây nói trên?

b. Xác định kiểu gen của những dòng thuần chủng này?

***Hướng dẫn giải***

a. Cứ mỗi loại hạt phấn sẽ tạo nên một dòng lưỡng bội thuần chủng. Cây có kiểu gen AabbDdEE (có 2 cặp gen dị hợp) tạo ra 4 loại hạt phấn, do đó sẽ tạo nên 4 dòng lưỡng bội thuần chủng.

b. Từ dòng đơn bội, tiến hành lưỡng bội hóa sẽ tạo nên dòng lưỡng bội, cho nên kiểu gen của các dòng lưỡng bội này được xác định thông qua các loại giao tử.

lưỡng bội hóa

nguyên phân

(hạt phấn dòng đơn bội dòng thuần chủng)

Cơ thể AabbDdEE cho 4 loại giao tử là AbDE; AbdE; abDE; abdE.

Kiểu gen của các dòng thuần chủng này là:

Từ loại giao tử AbDE sẽ tạo nên dòng thuần chủng có kiểu gen AAbbDDEE.

Từ loại giao tử AbdE sẽ tạo nên dòng thuần chủng có kiểu gen AAbbddEE.

Từ loại giao tử abDE sẽ tạo nên dòng thuần chủng có kiểu gen aabbDDEE.

Từ loại giao tử abdE sẽ tạo nên dòng thuần chủng có kiểu gen aabbddEE.

**Câu 5:** Chuyển nhân của tế bào sinh dưỡng từ cơ thể có kiểu gen AAbbDD vào trứng đã bị mất nhân của cơ thể có kiểu gen aaBBdd tạo ra tế bào chuyển nhân. Nuôi cấy tế bào chuyển nhân tạo nên cơ thể hoàn chỉnh. Hãy xác định kiểu gen của cơ thể chuyển nhân này?

***Hướng dẫn trả lời***

Kiểu gen của cơ thể do nhân quyết định. Cơ thể chuyển nhân này có nhân từ tế bào sinh dưỡng của cơ thể AAbbDD nên kiểu gen của nó là AAbbDD.

**Câu 6:** Tiến hành lai tế bào sinh dưỡng của cơ thể thuộc loài A có kiểu gen AAbb với tế bào sinh dưỡng thuộc loài B có kiểu gen HHmm tạo ra tế bào lai. Nuôi cây tế bào lai trong điều kiện thích hợp sẽ phát triển thành cây hoàn chỉnh. Hãy xác định kiểu gen của cây lai này?

***Hướng dẫn trả lời***

Khi lai thành công hai tế bào sinh dưỡng của hai cá thể thì sẽ tạo nên tế bào lai có kiểu gen bằng tổng kiểu gen của hai cá thể đó. Do vậy kiểu gen của cá thể lai này là AAbbHHmm.

**Câu 7**: Ở một loài thực vật, cho biết tính trạng do một gen quy định và trội hoàn toàn. Từ một giống cũ có kiểu gen Aa người ta đã tiến hành tạo ra giống lúa mới thuần chủng có kiểu gen AA.

a. Quá trình tạo giống này phải tiến hành ít nhất bao nhiêu phép lai? Trình bày các phép lai đó?

b. Nếu chỉ bằng phương pháp tự thụ phấn và chọn lọc thì đến thế hệ F3, tỉ lệ cá thể thuần chủng của giống là bao nhiêu?

***Hướng dẫn trả lời***

a. Phải tiến hành 3 phép lai.

- Phép lai 1: Cho giống có kiểu gen Aa tự thụ phấn được F1. Ở đời F1 sẽ có 2 loại kiểu hình là kiểu hình trội A- và kiểu hình lặn aa.

- Phép lai 2: Cho các cây có kiểu hình trội A- lai phân tích (lai với cây có kiểu gen aa). Từ kết quả phép lai phân tích sẽ biết được trong số các cây có kiểu hình A-, những cây nào thuần chủng (kiểu gen AA).

- Phép lai 3 : Cho các cây có kiểu gen đồng hợp AA tiến hành giao phấn hoặc tự thụ phấn thì đời F2 sẽ thu được tất cả các cây con thuần chủng. Tạo nên giống thuần chủng có kiểu gen AA.

b. Nếu chỉ bằng phương pháp tự thụ phấn, kết hợp chọn lọc thì:

- Ở đời F1:

Phép lai Aa  Aa: thì trong số các cá thể có kiểu hình A- ở đời con, kiểu gen AA chiếm tỉ lệ , kiểu gen Aa chiếm tỉ lệ  .

- Ở đời F2:



Vậy tỉ lệ kiểu gen AA trong số các cá thể có kiểu hình A- ở đời F2 là



- Ở đời F3:



Vậy tỉ lệ kiểu gen AA trong số các cá thể có kiểu hình A- ở đời F3 là



|  |
| --- |
| **- Từ giống có kiểu gen dị hợp, muốn tạo nên một giống thuần chủng về các tính trạng trội thì phải tiến hành ít nhất 3 phép lai.****- Từ giống có kiểu gen Aa, cho tự thụ phấn liên tục và ở mỗi thế hệ chỉ chọn lấy những cá thể có kiểu hình trội thì đến thế hệ Fn, kiểu gen dị hợp (Aa) chiếm tỉ lệ  .** |

**Câu 8:** Người ta muốn chuyển một gen từ cơ thể người vào tế bào *E.coli* nhằm tạo ra một lượng lớn sản phẩm của gen đó.

a. Hãy cho biết loại thể truyền nào cần được sử dụng?

b. Để gen cần chuyển có thể biểu hiện với cường độ cao, ổn định trong tế bào *E.coli* thì cần phải có những cải biến gì?

***Hướng dẫn trả lời***

a. Các loại thể truyền có thể sử dụng:

- Nếu gen có kích thước lớn thì có thể sử dụng thể truyền là phage.

- Nếu gen có kích thước nhỏ thì có thể sử dụng thể truyền là plasmit.

b. Các cải biến cần có:

- Loại bỏ các intron và promoter trên gen cần chuyển.

- Loại bỏ các gen gây hại hoặc không cần thiết trên thể truyền.

- Sử dụng các gen đánh dấu đi cùng gen cần chuyển.

- Khi tạo ADN tái tổ hợp, gen cần chuyển cần được gắn với một promoter khỏe, và thường gắn cùng với gen đánh dấu.

**Câu 9:** Bằng cách nào người ta có thể tạo ra một giống cây trồng có hai gen có lợi (A và B) luôn đi cùng nhau từ giống ban đầu có hai gen này phân li độc lập?

***Hướng dẫn trả lời***

- Gây đột biến chuyển đoạn không tương hỗ giữa hai NST chứa gen A và B, đưa hai gen về cùng một nhóm liên kết ở vị trí gần nhau. Quá trình này tạo ra thể đột biến chuyển đoạn dị hợp tử.

- Tạo ra giống mang đột biến chuyển đoạn đồng hợp tử từ thể đột biến chuyển đoạn dị hợp tử bằng cách tự thụ phấn qua nhiều đời hoặc nuôi cấy tế bào hạt phấn chứa NST đột biến rồi lưỡng bội hóa thành cây thuần chủng.

**Câu 10:** Để có thể mang một gen vào trong tế bào vi khuẩn và gen được biểu hiện với cường độ cao thì plasmit dùng làm thể truyền cần phải có những điều kiện gì?

***Hướng dẫn trả lời***

Điều kiện:

- Phải có kích thước phù hợp để mang được gen cần chuyển.

- Phải có trình tự ori (trình tự khởi đầu tái bản) giúp plasmit có thể nhân đôi trong tế bào.

- Phải có một promoter khỏe giúp tăng cường sự biểu hiện của gen.

- Phải có gen chỉ thị chọn lọc, gen này hoạt động như một gen trội, giúp nhận biết được tế bào nào đã nhận được ADN tái tổ hợp.

- Phải chứa các trình tự giới hạn, giúp cho các enzym giới hạn có thể nhận biết vị trí đặc hiệu để cắt và tạo ra vị trí cài gen.

**Câu 11:** Trong kĩ thuật chuyển gen, người ta thường sử dụng các enzym giới hạn như một công cụ phổ biến.

a. Enzym giới hạn là gì? Đặc điểm của enzym giới hạn?

b. Trong tự nhiên, enzym giới hạn chủ yếu có mặt trong các tế bào vi khuẩn. Hãy cho biết vai trò của nó đối với tế bào vi khuẩn?

c. Enzym giới hạn được sử dụng trong kĩ thuật di truyền nhằm mục đích gì?

***Hướng dẫn trả lời***

a. Enzym giới hạn hay còn gọi là enzym cắt hạn chế là những enzym làm đứt gãy các liên kết photphodieste trên ADN ở những trình tự nuclêôtit đặc hiệu (cắt ở những vị trí đặc hiệu xác định). Các enzym này không có hoạt tính exonucleaza, nghĩa là không cắt các nuclêôtit ở đầu tận cùng của ADN mà cắt tại các điểm đặc biệt trên phân tử. Điểm nhận biết trên ADN thường là trình tự nuclêôtit đặc hiệu phổ biến gồm 4-8 cặp bazơ nitơ, gọi là vị trí giới hạn.

Đặc điểm của enzym giới hạn:

- Cắt các liên kết photphodieste trên ADN tại những vị trí đặc hiệu.

- Hầu hết enzym giới hạn trong tự nhiên được tìm thấy ở trong tế bào vi khuẩn.

b. Vai trò của enzym giới hạn trong các tế bào vi khuẩn: Phá hủy các phân tử ADN lạ khi chúng xâm nhập vào tế bào, bảo vệ tế bào tránh khỏi sự lây nhiễm vi rút.

c. Enzym giới hạn được sử dụng trong kĩ thuật di truyền để cắt các gen nhất định ra khỏi NST, cắt thể truyền tại vị trí đặc hiệu tạo ra vị trí tái tổ hợp.

**Câu 12:** Enzym giới hạn (restrictaza) AvrII cắt ADN sợi kép tại trình tự nhận biết là 5’-XXTAGG-3’ Hệ gen nhân của người gồm 3.109 cặp bazơ, trong đó có 40% số cặp bazơ là G  X. Số đoạn ADN ước tính thu được khi cắt toàn bộ ADN hệ gen nhân người bằng enzym AvrII là bao nhiêu?

***Hướng dẫn trả lời***

- Tỉ lệ số cặp bazơ A - T là 60%

- Xác suất xuất hiện trình tự nhận biết của AvrII là:

0,2.0,2.0,3.0,3.0,2.0,2 = 1,44.10-4

- Vậy số điểm cắt giới hạn là: 1,44.10-4. 3.109 = 4,32.105.