



ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

Nguyễn Minh Lý (Chủ biên),
Đinh Xuân Tú, Phạm Thị Mỹ

♦ GIÁO TRÌNH

CHỈ THỊ PHÂN TỬ TRONG CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG



NHÀ XUẤT BẢN
ĐẠI HỌC QUỐC GIA THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH



ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

Nguyễn Minh Lý (Chủ biên)
Đinh Xuân Tú, Phạm Thị Mỹ

GIÁO TRÌNH
CHỈ THỊ PHÂN TỬ TRONG
CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

MỤC LỤC

Lời nói đầu	iii
Bảng viết tắt	v
Thuật ngữ	viii

Chương 1

GIỚI THIỆU VỀ CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG	1
1.1. Khái quát về chọn tạo giống cây trồng	1
1.2. Vai trò của chọn tạo giống cây trồng	13
1.3. Các giai đoạn của quá trình chọn tạo giống cây trồng	17
Câu hỏi ôn tập Chương 1	23
Tài liệu tham khảo Chương 1	24

Chương 2

KHÁI NIỆM VÀ PHÂN LOẠI CHỈ THỊ PHÂN TỬ	28
2.1. Chỉ thị di truyền	28
2.2. Khái niệm về chỉ thị phân tử	36
2.3. Phân loại chỉ thị phân tử	41
2.4. Ứng dụng của chỉ thị phân tử	95
2.5. Quy trình sử dụng chỉ thị phân tử	99
Câu hỏi ôn tập Chương 2	106
Tài liệu tham khảo Chương 2	107

Chương 3

ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ TRONG CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG	113
3.1. Đánh giá nguồn vật liệu khởi đầu bằng chỉ thị phân tử	116
3.2. Chọn lọc dựa vào chỉ thị phân tử	117
3.3. Giám định giống bằng chỉ thị phân tử	139

Câu hỏi ôn tập Chương 3	142
Tài liệu tham khảo Chương 3	143

Chương 4

BẢN ĐỒ LIÊN KẾT PHÂN TỬ VÀ ỨNG DỤNG	148
4.1. Khái niệm về bản đồ liên kết phân tử	148
4.2. Xây dựng bản đồ liên kết phân tử	157
4.3. Ứng dụng của bản đồ liên kết phân tử	171
Câu hỏi ôn tập Chương 4	176
Tài liệu tham khảo Chương 4	177

LỜI NÓI ĐẦU

Chọn tạo giống cây trồng là một lĩnh vực khoa học nhằm cải biến đặc điểm di truyền của cây trồng để phát triển các giống mới có năng suất cao, chất lượng tốt và khả năng chống chịu tốt với các yếu tố sinh học và phi sinh học. Trong bối cảnh gia tăng dân số, suy thoái tài nguyên và biến đổi khí hậu, việc nghiên cứu và ứng dụng các phương pháp chọn tạo giống hiện đại trở thành yêu cầu cấp thiết nhằm đảm bảo an ninh lương thực và phát triển bền vững cho mỗi khu vực lãnh thổ nói chung và cho từng quốc gia nói riêng.

Trong những thập kỷ gần đây, công nghệ sinh học đã có những bước tiến đáng kể, trong đó chỉ thị phân tử (CTPT) đã trở thành công cụ không thể thiếu trong chọn tạo giống. Được phát triển từ những năm 1980, CTPT đã mở ra một giai đoạn mới trong nghiên cứu chọn giống nhờ khả năng phân tích chính xác sự khác biệt di truyền giữa các cá thể. Việc ứng dụng CTPT giúp tối ưu hóa quá trình chọn lọc, rút ngắn thời gian lai tạo và nâng cao hiệu suất chọn giống. Đặc biệt, các phương pháp dựa trên phản ứng chuỗi polymerase (PCR) và giải trình tự DNA đã được triển khai rộng rãi, trở thành nền tảng quan trọng trong các chương trình chọn tạo giống cây trồng hiện đại.

Giáo trình này được biên soạn nhằm cung cấp hệ thống kiến thức tổng quan và chuyên sâu về CTPT trong chọn tạo giống cây trồng, phục vụ cho công tác giảng dạy ở bậc đại học, sau đại học cũng như nghiên cứu chuyên sâu trong lĩnh vực công nghệ sinh học nông nghiệp. Nội dung giáo trình gồm có bốn chương:

Chương 1: Giới thiệu về chọn tạo giống cây trồng.

Chương 2: Khái niệm và phân loại chỉ thị phân tử.

Chương 3: Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống cây trồng.

Chương 4: Bản đồ liên kết phân tử và ứng dụng.

Người học có thể linh hoạt lựa chọn các nội dung phù hợp với mục tiêu nghiên cứu và học tập của mình, thay vì phải tiếp cận theo

một trình tự cố định. Các câu hỏi ôn tập ở cuối mỗi chương không chỉ giúp người đọc tự đánh giá mức độ hiểu biết mà còn mang tính gợi mở, khuyến khích tư duy phản biện, tự tìm hiểu và ứng dụng kiến thức vào thực tiễn.

Tập thể tác giả xin gửi lời cảm ơn chân thành đến các đồng nghiệp, các học viên cao học thuộc Khoa Sinh – Nông nghiệp – Môi trường, Trường Đại học Sư phạm – Đại học Đà Nẵng đã hỗ trợ trong quá trình hoàn thành giáo trình này. Chúng tôi mong nhận được những ý kiến đóng góp từ quý độc giả để giáo trình tiếp tục được hoàn thiện và nâng cao chất lượng.

Tập thể tác giả

BẢNG VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AP-PCR	Arbitrary-primed PCR	PCR với đoạn mồi ngẫu nhiên
AFLP	Amplified fragment length polymorphism	Đa hình chiều dài các đoạn cắt được khuếch đại
BC	Backcross	Lai hồi giao (Lai trở lại)
Bp	Base pair	Cặp bazơ
CAPS	Cleaved amplified polymorphic sequence	Trình tự đa hình đoạn cắt được khuếch đại
CBDP	CAAT box-derived polymorphism	Đa hình vùng CAAT
CDDP	Conserved DNA-Derived Polymorphism	Đa hình vùng trình tự bảo tồn thu được
cDNA	Complementary DNA	DNA bổ sung
CoRAP	Conserved region amplification Polymorphism	Đa hình vùng trình tự bảo tồn được khuếch đại
CRISPR	Clustered regularly interspaced short palindromic repeats	Nhóm các đoạn ngắn đối xứng lặp lại thường xuyên
CTPT	Molecular marker	Chỉ thị phân tử
DH	Double haploid	Đơn bội kép
DAF	DNA amplification fingerprinting	Dấu vân tay trình tự được khuếch đại
DNA	Deoxyribonucleic acid	Deoxyribonucleic acid

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
DP	Donor parent	Dòng cho
DUS	Distinctness, Uniformity, Stability	Tính khác biệt, tính đồng nhất, tính ổn định
GEBV	Genomic estimated breeding value	Giá trị chọn giống ước tính của hệ gen
GD _{MR}	Genetic modified Roger's distance	Khoảng cách di truyền sửa đổi theo Roger
GS	Genomic selection	Chọn lọc hệ gen
ISSR	Inter simple sequence repeats	Trình tự giữa các đoạn lặp lại đơn
ITP	Intron-targeting polymorphism	Đa hình trình tự Intron đích
MAB	Marker-assisted breeding	Chọn tạo giống dựa vào chỉ thị phân tử
MAS	Marker-assisted selection	Chọn lọc dựa vào chỉ thị phân tử
NIL	Near isogenic line	Dòng đẳng gen
NST	Chromosome	Nhiễm sắc thể
Nt	Nucleotide	Nucleotide
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis	Điện di trên gel polyacrylamide
PCR	Polymerase chain reaction	Phản ứng chuỗi polymerase
QTHL	Training population	Quần thể huấn luyện

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
QTL	Quantitative trait loci	Locus tính trạng số lượng
RAPD	Random amplification of polymorphic DNA	Đa hình trình tự DNA được khuếch đại ngẫu nhiên
RFLP	Restriction fragment length polymorphism	Đa hình chiều dài đoạn giới hạn
RIL	Recombinant inbred line	Dòng cận giao tái tổ hợp
RP	Recurrent parent	Dòng nhận hoặc dòng hồi quy
SCAR	Sequence characterized amplified region	Vùng trình tự được tổng hợp đặc trưng
SCoT	Start codon-targeted polymorphism	Đa hình bộ ba mở đầu đích
SNP	Single nucleotide polymorphism	Đa hình nucleotide đơn
SRAP	Sequence-related amplified polymorphism	Đa hình các trình tự liên quan được nhân bản
SSCP	Single-strand conformation profile/ polymorphism	Đa hình hình dạng chuỗi đơn
SSR	Simple sequence repeat	Trình tự lặp lại đơn
STS	Sequence-tagged sites	Vùng trình tự đánh dấu
TRAP	Target region amplification polymorphism	Đa hình vùng đích được tổng hợp
VCU	Value of cultivation and use	Giá trị canh tác và giá trị sử dụng

THUẬT NGỮ

Alen	Một trong số hai hoặc nhiều biến thể của trình tự DNA phân bố tại cùng một vị trí (locus) trên nhiễm sắc thể.
Bản đồ liên kết	Bản đồ mô tả về vị trí tương đối của các chỉ thị di truyền trên nhiễm sắc thể, được xác định dựa trên tần số tái tổ hợp với đơn vị khoảng cách centimorgans (cM).
Centimorgan (cM)	Đơn vị đo tần số tái tổ hợp. Một centimorgan tương đương với 1% khả năng hai chỉ thị phân tử trên một nhiễm sắc thể sẽ bị tách ra do sự trao đổi chéo trong một thế hệ.
Chất phát huỳnh quang	Phân tử hấp thụ ánh sáng có bước sóng nhất định và phát ra ánh sáng có bước sóng dài hơn.
Chỉ thị di truyền	Chỉ thị di truyền là một đặc tính sinh học di truyền và được sử dụng như một chỉ dấu để theo dõi, đánh giá loài, quần thể, cá thể, mô, tế bào, nhiễm sắc thể hoặc gen. Trên bản đồ di truyền, mỗi chỉ thị di truyền chiếm một vị trí nhất định trên nhiễm sắc thể hoặc nhóm liên kết và được dùng làm điểm tham chiếu cho vị trí của các gen khác được quan tâm trên bản đồ.
Chỉ thị đồng trội	Chỉ thị cho phép nhận diện hai hay nhiều alen của cùng một locus ở một cá thể. Do đó, chỉ thị đồng trội có thể phân biệt kiểu gen dị hợp tử với kiểu gen đồng hợp tử.
Chỉ thị phân tử	Chỉ thị phân tử hay chỉ thị DNA là các chuỗi DNA với các vị trí phân bố trên nhiễm sắc thể có thể đã được xác định hoặc chưa xác định.
Chỉ thị phân tử dựa vào phản ứng PCR	Các chỉ thị phân tử dựa trên đa hình trình tự DNA được phát hiện bằng phương pháp PCR các mẫu DNA.

Chỉ thị trội	Sự tồn tại của một alen chỉ được theo dõi dựa trên sự xuất hiện hoặc không xuất hiện của chỉ thị phân tử và không thể xác định được trạng thái dị hợp tử.
Chip DNA	Xem microarray.
Chọn lọc hệ gen	Một loại đặc biệt của MAS, trong đó thông tin từ dữ liệu kiểu gen của tất cả các CTPT bao phủ toàn bộ hệ gen được sử dụng làm cơ sở cho việc chọn lọc.
Chọn lọc nền	Chọn được dựa vào chỉ thị phân tử cho các vùng gen của dòng hồi quy, ngoại trừ gen/QTL mục tiêu.
Chọn tạo giống	Khoa học và nghệ thuật thay đổi đặc điểm di truyền của sinh vật nhằm một mục đích cụ thể của con người.
Dị hợp tử	Một cá thể có chứa 2 alen khác nhau của cùng một locus.
Dòng cho	Dòng có kiểu gen đồng hợp tử chứa gen/tính trạng mục tiêu và gen/tính trạng mục tiêu này sẽ được chuyển sang dòng khác.
Dòng đẳng gen	Các dòng có cùng kiểu gen ngoại trừ một alen duy nhất.
Đa dạng di truyền	Tổng số sự khác biệt di truyền tồn tại giữa các cá thể, kiểu gen, chủng, dòng vô tính hoặc quần thể khác nhau của một loài.
Đa hình	Tính đa hình di truyền là sự khác biệt ở bất kỳ vị trí nào trong hệ gen.
Đầu dò	Đoạn phân tử DNA chuỗi đơn có kích thước, được sử dụng trong phản ứng lai, để phát hiện sự hiện diện của trình tự bổ sung trong hỗn hợp của các phân tử DNA khác nhau.

Điện di DNA	Phương pháp phân tách các phân tử DNA bằng cách sử dụng điện trường để làm cho chúng di chuyển bên trong giá thể “gel” với tốc độ tương ứng với điện tích và kích thước của chúng.
Đồng hợp tử	Một cá thể có chứa 2 alen giống nhau của cùng một locus.
Đơn bội kép	Một cá thể có mức độ bội $2n$ được tạo ra bằng cách nhân đôi bộ nhiễm sắc thể đơn bội n của thể giao tử.
Enzym giới hạn	Enzyme nhận biết và cắt phân tử DNA ở vị trí đặc trưng có chiều dài từ bốn đến sáu nucleotide.
Enzyme	Một protein hoạt động như chất xúc tác, tăng tốc độ phản ứng hóa sinh nhưng không làm thay đổi hướng hoặc bản chất của phản ứng.
Gene	Đơn vị di truyền cơ bản; chứa thông tin quy định các đặc điểm cấu trúc, chức năng của cơ thể.
Giải trình tự DNA	Xác định trình tự sắp xếp các nucleotide trong một phân tử DNA
Giống cây trồng	Tập hợp các cây đã được chọn cho một đặc tính cụ thể hoặc kết hợp các tính trạng, là khác biệt, đồng nhất và ổn định trong các tính trạng đó, và khi được nhân giống bằng các phương pháp thích hợp, vẫn giữ lại các tính trạng đó.
Giống lai F1	Thế hệ F1 từ các phép lai giữa hai hoặc nhiều dòng thuần khác nhau về mặt di truyền và được sử dụng cho sản xuất thương mại.
Hệ gen	Toàn bộ phân tử DNA được tìm thấy trong tế bào của một cá thể. Hệ gen sinh vật bao gồm vật chất di truyền nằm trong nhân và tế bào chất.

Kiểu gen	Sự kết hợp cụ thể của các alen của một locus trong hệ gen.
Kiểu hình lặn	Kiểu hình chỉ được biểu hiện ở sinh vật ở trạng thái đồng hợp tử về các alen tương ứng.
Kiểu hình trội	Kiểu hình được biểu hiện ở một sinh vật có kiểu gen đồng hợp tử hoặc dị hợp tử đối với các alen tương ứng.
Lai hồi giao	Sự lai trở lại của thế hệ F1 hoặc các thế hệ sau với một trong hai dòng bố mẹ được sử dụng để tạo ra nó.
Lai tạo (hoặc lai)	Quá trình chuyển hạt phấn từ bao phấn của hoa của một cây sang đầu nhụy của hoa của cây khác nhằm mục đích tạo ra thế hệ con lai chứa vật chất di truyền của cả hai bố mẹ.
Liên kết	Hai hoặc nhiều gen/locus nằm gần nhau trên cùng một nhiễm sắc thể có xu hướng di truyền cùng nhau.
Locus SNP	Vị trí cụ thể trong hệ gen, tại đó các nucleotide khác nhau xuất hiện trong cùng một chuỗi DNA của các cá thể khác nhau trong loài.
Mã vạch DNA	Trình tự DNA của hệ gen được tiêu chuẩn hóa có chiều dài vài trăm nucleotide và được sử dụng để định danh các sinh vật.
Microarray	Tiêu bản (thủy tinh, nhựa, kim loại) bao gồm nhiều giếng nhỏ, và trong mỗi giếng nhỏ có chứa tập hợp các đầu dò DNA (phân tử DNA ngắn) được gắn trên bề mặt rắn để có thể lai với các đoạn DNA mẫu. Microarray hay còn gọi là chip DNA.
Nguồn gen	Tổng số thông tin di truyền hay tất cả các alen của các gen khác nhau hiện diện ở một loài cây trồng và họ hàng hoang dại của nó.

Sinh sản vô tính	Là quá trình sinh sản không có sự kết hợp của các giao tử đực và cái.
SNP	Sự biến đổi ở các cặp nucleotide đơn của phân tử DNA.
Thế hệ lai	Thế hệ sau được tạo ra từ sự lai tạo giữa bố mẹ khác nhau.
Trao đổi chéo	Sự trao đổi các đoạn tương ứng giữa các nhiễm sắc thể khác nguồn gốc trong cặp tương đồng ở kỳ đầu giảm phân.
Trình tự được bảo tồn	Trình tự nucleotide của phân tử DNA (hoặc trình tự anino acid của phân tử protein) về cơ bản không thay đổi trong suốt quá trình tiến hóa.
Ưu thế lai	Hiện tượng vượt trội của thế hệ lai F1 so với các dòng bố mẹ về năng suất và một vài tính trạng khác.
Vi vệ tinh	Một trình tự DNA ngắn, thường có chiều dài từ một đến sáu nucleotide trở lên, được lặp lại nhiều lần liên tiếp tại một vị trí cụ thể trong hệ gen.