

ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM



VÕ CHÂU TUẤN, TRẦN QUANG DẦN (đồng chủ biên)

VŨ ĐỨC HOÀNG

GIÁO TRÌNH
CÔNG NGHỆ SINH HỌC THỰC VẬT

ĐÀ NẴNG - NĂM 2023

ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

VÕ CHÂU TUẤN, TRẦN QUANG DẦN (đồng chủ biên)

VŨ ĐỨC HOÀNG

GIÁO TRÌNH
CÔNG NGHỆ SINH HỌC THỰC VẬT

ĐÀ NẴNG - NĂM 2023

MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC	3
TÓM TẮT CHƯƠNG	3
1.1. Một số khái niệm.....	3
1.1.1. Công nghệ sinh học thực vật	3
1.1.2. Các công nghệ của công nghệ sinh học thực vật.....	4
1.2. Các nguyên lý cơ sở	6
1.2.1. Tính toàn năng của tế bào.....	6
1.2.2. Tái tổ hợp DNA.....	6
1.2.3. Biến nạp di truyền	7
1.3. Các giai đoạn phát triển của công nghệ sinh học thực vật.....	7
1.3.1. Giai đoạn phát triển nền tảng công nghệ nuôi cấy mô và tế bào	7
1.3.2. Giai đoạn hình thành công nghệ gene thực vật	8
1.3.3. Giai đoạn ứng dụng mạnh mẽ các thành tựu.....	10
1.4. Các lĩnh vực ứng dụng của công nghệ sinh học thực vật.....	11
1.4.1. Nông nghiệp	11
1.4.2. Công nghiệp chế biến và năng lượng	12
1.4.3. Sản xuất dược phẩm	13
1.4.4. Bảo tồn nguồn gene thực vật.....	13
1.4.5. Bảo vệ môi trường.....	13
1.4.6. Nghiên cứu sinh học thực vật.....	14
1.5. Xu hướng phát triển của công nghệ sinh học thực vật.....	14

1.5.1. Phát triển công nghệ nuôi cấy tế bào.....	14
1.5.2. Ứng dụng của các công nghệ di truyền ở thực vật.....	15
1.5.3. Phát triển công nghệ mã vạch dựa vào chỉ thị phân tử.....	15
1.6. Tình hình nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh học thực vật	15
1.6.1. Phát triển nguồn lực.....	16
1.6.2. Thành tựu nghiên cứu và ứng dụng.....	16
1.6.3. Định hướng phát triển đến năm 2030.....	17
CÂU HỎI ÔN TẬP.....	18
CHƯƠNG 2. GIỚI THIỆU VỀ NUÔI CẤY MÔ VÀ TẾ BÀO THỰC VẬT.....	19
TÓM TẮT CHƯƠNG	19
2.1. Lịch sử phát triển	19
2.2. Cơ sở khoa học của nuôi cấy mô và tế bào thực vật.....	23
2.3. Một số thuật ngữ trong nuôi cấy mô và tế bào thực vật.....	24
2.4. Một số ứng dụng của công nghệ nuôi cấy mô và tế bào thực vật.....	28
2.4.1. Trong nghiên cứu	28
2.4.2. Trong thực tiễn	28
CÂU HỎI ÔN TẬP.....	31
CHƯƠNG 3. MÔI TRƯỜNG DINH DƯỠNG, ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY MÔ ...	32
TÓM TẮT CHƯƠNG	32
3.1. Môi trường dinh dưỡng.....	32
3.1.1. Dinh dưỡng vô cơ.....	33
3.1.2. Dinh dưỡng hữu cơ.....	35
3.1.3. Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật	41
3.1.4. Tác nhân làm rắn môi trường	45

3.1.5. pH môi trường	46
3.1.6. Một số loại môi trường cơ bản dùng trong nuôi cấy	46
3.2. Các điều kiện nuôi cấy	48
3.2.1. Điều kiện phòng thí nghiệm và các thiết bị nuôi cấy	48
3.2.2. Vô trùng trong nuôi cấy mô và tế bào thực vật	51
3.3. Lựa chọn mô cây và xử lý mô cây <i>in vitro</i>	58
CÂU HỎI ÔN TẬP	60
CHƯƠNG 4. NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH <i>IN VITRO</i> Ở THỰC VẬT.....	61
TÓM TẮT CHƯƠNG	61
4.1. Mục đích của nhân giống vô tính <i>in vitro</i>	61
4.2. Những ưu điểm và hạn chế trong nhân giống vô tính <i>in vitro</i>	62
4.2.1. Ưu điểm	62
4.2.2. Hạn chế	63
4.3. Các con đường trong nhân giống vô tính <i>in vitro</i>	64
4.3.1. Nhân giống thông qua phát sinh phôi vô tính	64
4.3.2. Tái sinh cây mới từ các cấu trúc sinh dưỡng.....	66
4.3.3. Nhân giống thông qua callus	71
4.4. Quy trình nhân giống vô tính <i>in vitro</i>	72
4.4.1. Giai đoạn chuẩn bị mẫu nuôi cấy	73
4.4.2. Giai đoạn tạo nguyên liệu <i>in vitro</i> khởi đầu	73
4.4.3. Giai đoạn nhân nhanh chồi <i>in vitro</i>	75
4.4.4. Giai đoạn hình thành cây <i>in vitro</i>	76
4.4.5. Giai đoạn huấn luyện cây con ở vườn ươm	77
4.5. Sản xuất cây giống <i>in vitro</i> thực vật trong hệ thống phản ứng	79

CÂU HỎI ÔN TẬP.....	82
CHƯƠNG 5. NUÔI CÂY TẾ BÀO THỰC VẬT TRONG SẢN XUẤT	83
TÓM TẮT CHƯƠNG	83
5.1. Nuôi cấy tế bào thực vật.....	83
5.1.1. Giới thiệu chung	83
5.1.2. Nuôi cấy huyền phù tế bào thực vật	84
5.1.3. Đánh giá tốc độ sinh trưởng của tế bào	94
5.1.4. Nuôi cấy tế bào thực vật trong hệ lên men.....	95
5.2. Sản xuất các hợp chất thứ cấp bằng nuôi cấy tế bào thực vật.....	98
5.2.1. Hợp chất thứ cấp ở thực vật	99
5.2.2. Sản xuất các hợp chất thứ cấp ở thực vật	100
5.2.3. Một số giải pháp nâng cao khả năng sản xuất các hợp chất thứ cấp	106
CÂU HỎI ÔN TẬP.....	108
CHƯƠNG 6. NUÔI CÂY MÔ VÀ TẾ BÀO TRONG CHỌN TẠO GIỐNG.....	109
TÓM TẮT CHƯƠNG	109
6.1. Chọn tạo dòng biến dị soma.....	109
6.1.1. Giới thiệu chung	109
6.1.2. Cơ sở khoa học của biến dị soma	110
6.1.3. Các yếu tố ảnh hưởng đến biến dị soma.....	111
6.1.4. Các phương pháp chọn tạo dòng biến dị soma	112
6.2. Chọn tạo dòng biến dị giao tử	113
6.2.1. Cơ sở khoa học của biến dị giao tử	114
6.2.2. Các kiểu hình thành cây đơn bội in vitro	116
6.2.3. Các bước phát triển phôi của hạt phấn	116

6.2.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến nuôi cấy bao phần.....	117
6.3. Ứng dụng của dòng biến dị soma và dòng biến dị giao tử trong chọn tạo giống cây trồng	119
CÂU HỎI ÔN TẬP.....	121
CHƯƠNG 7. BẢO TỒN NGUỒN GENE <i>IN VITRO</i>.....	122
TÓM TẮT CHƯƠNG	122
7.1. Giới thiệu chung về bảo tồn nguồn gene thực vật	122
7.1.1. Bảo tồn nguyên vị.....	123
7.1.2. Bảo tồn chuyển vị.....	123
7.1.3. Bảo tồn in vitro	123
7.2. Phương pháp bảo quản ngắn hạn	125
7.2.1. Bảo quản ở điều kiện nhiệt độ thấp	125
7.2.2. Bảo quản trong môi trường thiếu oxy	126
7.2.3. Bảo quản trong điều kiện môi trường không thuận lợi	126
7.3. Phương pháp bảo quản đông lạnh	126
7.3.1. Cơ sở của phương pháp	126
7.3.2. Các phương pháp bảo quản đông lạnh	127
7.3.3. Các bước của quy trình bảo quản đông lạnh	127
CÂU HỎI ÔN TẬP.....	133
CHƯƠNG 8. VẬT CHẤT DI TRUYỀN VÀ CÁC PHƯƠNG PHÁP	134
TÓM TẮT CHƯƠNG	134
8.1. Các hệ gene ở thực vật	134
8.1.1. Hệ gene nhân	134
8.1.2. Hệ gene bào quan	136
8.2. Cấu trúc và biểu hiện của gene	139

8.2.1. Cấu trúc của gene	139
8.2.2. Biểu hiện gene	140
8.3. Điều hoà biểu hiện gene	141
8.3.1. Điều hoà biểu hiện gene ở mức độ nhiễm sắc thể	141
8.3.2. Điều hoà biểu hiện gene ở mức độ phiên mã	142
8.3.3. Điều hoà biểu hiện gene ở mức độ sau phiên mã	142
8.4. Các phương pháp phân tích acid nucleic	144
8.4.1. Các phương pháp phản ứng khuếch đại DNA	144
8.4.2. Các phương pháp lai phân tử	149
8.4.3. Các phương pháp giải trình tự DNA	152
CÂU HỎI ÔN TẬP	156
CHƯƠNG 9. PHÂN LẬP VÀ TẠO DÒNG GENE	157
TÓM TẮT CHƯƠNG	157
9.1. Thực vật chuyển gene	157
9.2. Các bước cơ bản tạo thực vật chuyển gene	157
9.3. Phân lập gene	159
9.4. Tạo dòng gene	160
9.4.1. Các phương pháp tạo dòng gene	161
9.4.2. Các trình tự cơ bản của vector chuyển gene thực vật	172
9.4.3. Các loại vector chuyển gene thực vật	174
9.4.4. Promoter	178
9.4.5. Các gene chỉ thị	179
9.5. Một số vấn đề lưu ý khi thiết kế vector tái tổ hợp mang gene mục tiêu	186
9.5.1. Sắp xếp gene	186

9.5.2. Sử dụng codon	186
9.5.3. Các trình tự chức năng tăng cường hiệu quả biểu hiện	187
9.6. Hệ thống chỉnh sửa gene	187
9.6.1. Nguyên lý chung	187
9.6.2. Các loại hệ thống chỉnh sửa gene	188
9.6.3. Hệ thống CRISPR - Cas9	190
9.7. Các tính trạng cần quan tâm trong phát triển cây chuyển gene	193
9.7.1. Chuyển gene tạo cây kháng thuốc diệt cỏ	193
9.7.2. Chuyển gene tạo cây kháng sâu	194
9.7.3. Chuyển gene tạo cây kháng nấm bệnh	194
9.7.4. Chuyển gene tạo cây kháng virus gây bệnh	195
9.7.5. Chuyển gene tạo cây kháng điều kiện ngoại cảnh bất thuận.....	195
9.7.6. Chuyển gene tạo cây sản xuất những loại protein mới	196
9.7.7. Chuyển gene tạo cây cải thiện chất lượng dinh dưỡng	196
9.7.8. Chuyển gene tạo cây hoa có tính trạng mới	197
9.7.9. Chuyển gene tạo cây làm thức ăn chăn nuôi và nguyên liệu công nghiệp	197
9.7.10. Chuyển gene tạo cây có khả năng xử lý ô nhiễm môi trường.....	197
CÂU HỎI ÔN TẬP.....	198
CHƯƠNG 10. CÁC PHƯƠNG PHÁP CHUYỂN GENE.....	199
TÓM TẮT CHƯƠNG	199
10.1. Chuyển gene ở thực vật.....	199
10.2. Các phương pháp chuyển gene trực tiếp.....	200
10.2.2. Phương pháp dội bom	200
10.2.3. Chuyển gene vào protoplast	206

10.2.4. Các phương pháp khác	207
10.3. Chuyển gene thông qua vi khuẩn <i>Agrobacterium</i>	208
10.3.1. Biến nạp vật liệu di truyền vào thực vật của <i>Agrobacterium</i>	208
10.3.2. Các cải tiến ở vi khuẩn <i>Agrobacterium</i> cho mục đích	211
10.3.3. Lây nhiễm <i>Agrobacterium</i> vào mô/tế bào thực vật.....	213
10.3.4. Chuyển gene in planta	214
10.3.4. Ưu điểm và nhược điểm của phương pháp chuyển gene	215
10.4. Đánh giá kết quả chuyển gene và tái sinh cây chuyển gene	215
10.4.1. Các yếu tố cơ bản ảnh hưởng tới hiệu quả chuyển gene.....	215
10.4.2. Phân tích sự có mặt của DNA ngoại lai	216
10.4.3. Phân tích biểu hiện của gene chuyển	217
10.4.4. Tái sinh cây chuyển gene	219
CÂU HỎI ÔN TẬP	220
CHƯƠNG 11. ĐÁNH GIÁ THỰC NGHIỆM, ỨNG DỤNG VÀ VẤN ĐỀ	221
TÓM TẮT CHƯƠNG	221
11.1. Đánh giá thực nghiệm cây trồng chuyển gene	221
11.2. Ứng dụng của cây trồng chuyển gene.....	222
11.2.1. Ứng dụng cải thiện khả năng chống chịu các yếu tố sinh học	224
11.2.2. Ứng dụng cải thiện khả năng kháng stress	227
11.2.4. Ứng dụng cải thiện chất lượng sản phẩm.....	230
11.3. Vấn đề an toàn sinh học của cây trồng chuyển gene	231
11.3.1. Những câu hỏi đặt ra về an toàn sinh học của cây trồng.....	232
11.3.2. Các quy định về cây trồng chuyển gene.....	233
11.3.3. Vấn đề an toàn sinh học của các cây trồng mang tính trạng mới...	236

11.4. Các quy định và tình hình ứng dụng cây trồng biến đổi gene tại	237
11.4.1. Các quy định liên quan đến cây trồng biến đổi gene	237
11.4.2. Tình hình ứng dụng cây trồng chuyển gene tại Việt Nam	238
CÂU HỎI ÔN TẬP.....	240
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	241

LỜI NÓI ĐẦU

Từ đầu thế kỉ XX đến nay, lĩnh vực Công nghệ sinh học đã có những bước phát triển vượt bậc và mang lại những thành tựu có ý nghĩa cho nhân loại. Công nghệ sinh học không chỉ là công cụ nghiên cứu hữu ích trong sinh học mà còn là một công nghệ được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực sản xuất và đời sống. Công nghệ sinh học thực vật là một lĩnh vực của công nghệ sinh học, bao gồm các công nghệ gắn liền với khai thác và ứng dụng các hoạt động của tế bào và phân tử sinh học ở thực vật. Với vai trò quan trọng, hiện nay công nghệ sinh học thực vật đã được đưa vào giảng dạy trong các chương trình đào tạo ngành Công nghệ sinh học ở nhiều trường đại học.

Xuất phát từ nhu cầu học tập của sinh viên hệ cử nhân ngành Công nghệ sinh học nói riêng, cũng như sinh viên các ngành sinh học nói chung, của Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng, tập thể tác giả đã được Nhà trường giao nhiệm vụ biên soạn giáo trình "*Công nghệ sinh học thực vật*". Giáo trình được biên soạn dựa trên mục tiêu, chuẩn đầu ra của học phần tương ứng trong chương trình đào tạo. Do đó, nội dung của giáo trình chỉ tập trung vào hai công nghệ chính là công nghệ nuôi cấy mô tế bào và công nghệ gene thực vật, được cấu trúc gồm 11 chương:

Chương 1 - Giới thiệu chung về công nghệ sinh học thực vật;

Chương 2 – Giới thiệu về nuôi cấy mô và tế bào thực vật;

Chương 3 - Môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy mô và tế bào thực vật;

Chương 4 - Nhân giống vô tính in vitro ở thực vật;

Chương 5 - Nuôi cấy tế bào thực vật trong sản xuất các hợp chất thứ cấp;

Chương 6 - Nuôi cấy mô và tế bào trong chọn tạo giống thực vật;

Chương 7 - Bảo tồn nguồn gene in vitro;

Chương 8 - Vật chất di truyền và các phương pháp phân tích acid nucleic thực vật;

Chương 9 - Phân lập và tạo dòng gene;

Chương 10 - Các phương pháp chuyển gene;

Chương 11 - Đánh giá thực nghiệm, ứng dụng và vấn đề an toàn sinh học cây trồng chuyển gene.

Qua đây, nhóm tác giả chân thành gửi lời cảm ơn đến các đồng nghiệp đã có những góp ý quý báu trong quá trình biên soạn. Giáo trình được biên soạn lần đầu nên chắc chắn không tránh khỏi những thiếu sót. Rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến của bạn đọc để giáo trình ngày càng được hoàn thiện hơn.

Nhóm tác giả