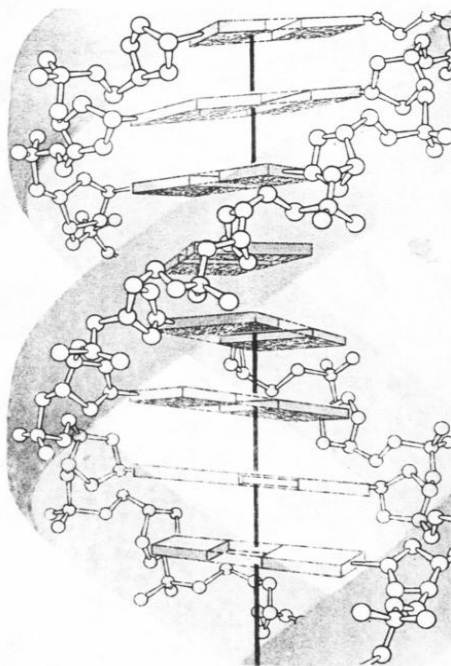


PGS.TS NGUYỄN MINH HOÀN

CƠ SỞ DI TRUYỀN



CHỌN GIỐNG ĐỘNG VẬT

HUẾ, 2005

BÀI MỞ ĐẦU

Di truyền học là môn khoa học nghiên cứu về tính di truyền và biến dị của sinh vật. Hay nói cách khác di truyền học nghiên cứu các qui luật truyền đạt thông tin từ thế hệ tổ tiên cho con cháu và những qui luật biến đổi của quá trình truyền đạt đó.

Tính di truyền đảm bảo cho sự giống nhau giữa con cái với cha mẹ, giữa anh chị em, giữa các cá thể có quan hệ họ hàng thân thuộc. Các sinh vật đều có tính di truyền, biểu hiện ở chỗ là con cái thừa hưởng các tính trạng của bố mẹ. Có thể coi tính di truyền là đặc tính của bố mẹ truyền lại cho con cái những tính chất và đặc điểm phát triển của mình, mà nhờ đó các loài sinh vật bảo tồn được những đặc điểm riêng của mình qua hàng loạt thế hệ. Chính vì vậy mà khi sinh vật chuyển từ thế hệ này sang thế hệ khác sự sống vẫn đảm bảo liên tục, ổn định..

Tính di truyền được đảm bảo qua quá trình sinh sản. Trong quá trình sinh sản hữu tính, nhờ sự kết hợp giữa tế bào sinh dục đực và tế bào sinh dục cái mà thực chất là sự kết hợp vật chất di truyền của bố và mẹ, mà đã đảm bảo sự kế tục vật chất di truyền giữa các thế hệ.

Với hình thức sinh sản vô tính, cơ thể mới được sinh ra từ những tế bào soma hay từ những tế bào đặc biệt (bào tử thực vật, các mảnh nhỏ thủy tức...) Trong hình thức sinh sản vô tính, tính di truyền được đảm bảo nhờ sự phân chia của các tế bào soma. Tính di truyền vừa đảm bảo cho sự kế tục các đặc tính của sinh vật qua các thế hệ, vừa đảm bảo cho các cơ thể sinh vật một hình thức phát triển đặc thù, hình thành nên những tính trạng và đặc tính nhất định.

Thực ra, trong bất kỳ hình thức sinh sản nào của cơ thể sinh vật, trong các tế bào soma riêng rẽ hay các tế bào sinh dục, chưa phải đã có sẵn tất cả các tính trạng và đặc tính của cơ thể trưởng thành, mà các tính trạng và đặc tính đó của cơ thể được hình thành dần trong quá trình phát triển cá thể trong những điều kiện môi trường nhất định.

Ở người, động vật có vú, tế bào trứng của mẹ kết hợp với tinh trùng của cha tạo ra hợp tử, đó là cầu nối giữa hai thế hệ. Hợp tử không trực tiếp mang các đặc tính của cha mẹ mà chứa chương trình phát triển cá thể ở dạng bộ gen, được gọi là thông tin di truyền.

Thông tin di truyền được mã hóa ở dạng trình tự thẳng của 4 loại nucleotide của axit nucleic (DNA và RNA). Đơn vị của thông tin di truyền là các gen. Mọi tính trạng của sinh vật đều chịu sự chi phối của các gen

tương ứng. Trong khối đa dạng của nhiều tính trạng, các nhà sinh học có thể tách riêng từng đơn vị riêng lẻ để nghiên cứu, đó là gen-tính trạng.

Thông tin di truyền được hiện thực hóa ở thế hệ sau trong quá trình phát triển cá thể. Mỗi sinh vật trong quá trình lớn lên đều lặp lại chính xác các giai đoạn phát triển như của cha mẹ. Con người bắt đầu từ giai đoạn hợp tử, phôi thai, sinh ra, trưởng thành, già và chết. Bộ máy di truyền chi phối mọi biểu hiện sống tái tạo các cấu trúc tinh vi, điều hòa việc thực hiện hàng loạt chuỗi phản ứng hóa học phức tạp, giúp cơ thể phản ứng và thích nghi với môi trường. Do vậy, truyền đạt các tính trạng đặc trưng của loài qua nhiều thế hệ chỉ là một mặt của tính di truyền, mặt quan trọng hơn, nó là cơ sở cho mọi biểu hiện sống đặc trưng ở mỗi sinh vật.

Cơ sở vật chất của tính di truyền đó là tất cả những yếu tố cấu trúc tế bào có khả năng tái sinh, phân ly, tổ hợp về các tế bào con trong quá trình phân chia của tế bào cơ thể. Vật chất di truyền xét ở cấp độ tế bào là nhiễm sắc thể, ở cấp độ phân tử là các gen, trên các phân tử axit nucleic. Người ta cũng đã xác nhận rằng sự nhân đôi của nhiễm sắc thể cũng như quá trình phân ly của chúng trong nguyên phân cũng như giảm phân có vai trò đặc biệt quan trọng đảm bảo kế tục vật chất di truyền ổn định qua các thế hệ.

Tóm lại, di truyền là đặc tính cơ bản của cơ thể sinh vật đảm bảo cho sự kế tục vật chất di truyền và chức năng qua các thế hệ. Như vậy đối tượng nghiên cứu của di truyền học, ngoài việc nghiên cứu tính di truyền còn nghiên cứu quá trình biến dị tính di truyền của sinh vật.

Biến dị biểu hiện ở sự sai khác giữa các cá thể con cái với cha mẹ hay với các cá thể khác cùng đàn. Một mặt sự biến đổi của bộ máy thông tin di truyền dẫn đến các biến dị, mặt khác cũng chính các cơ chế di truyền tạo sự đa dạng trong giới sinh vật và trong nội bộ đàn, bầy hoặc trong cùng một gia đình. Tuy nhiên biến dị tuy có số lượng rất lớn và hết sức đa dạng nhưng xảy ra trong một khuôn khổ nhất định nên mới xếp các sinh vật vào những đơn vị phân loại như loài, giống, họ, bộ...

Theo Darwin, di truyền, biến dị và chọn lọc là những nhân tố tiến hóa. Biến dị tạo sự đa dạng, cung cấp nguyên liệu cho tiến hóa, di truyền duy trì các đặc tính, còn chọn lọc tự nhiên là nhân tố định hướng phát triển các dạng sinh vật và dẫn đến sự đa dạng của sự sống như ngày nay.

Thông tin thích nghi lúc đầu xuất hiện ở đời sống cá thể tạo ưu thế trong cuộc đấu tranh sinh tồn nên được chọn lọc tự nhiên giữ lại và ghi thêm vào thông tin di truyền của sinh vật. Do vậy, thông tin thích nghi

cũng chịu sự chi phối của bộ gen và được lưu truyền. Trong tiến hóa có sự thừa kế, bộ gen của sinh vật tiến hóa cao hơn vẫn còn mang nhiều thông tin di truyền của tổ tiên. Điều này thể hiện rõ ở sự lặp lại các giai đoạn của tổ tiên trong phát triển của phôi ở những sinh vật bậc cao: phôi người lúc đầu giống cá, bò sát, động vật có vú... Tiến hóa thích nghi, từ một tổ tiên ban đầu, tạo nên sự đa dạng của các sinh vật như ngày nay.

Trong chăn nuôi gia súc, con người đã vận dụng những kiến thức về di truyền vào việc đánh giá, chọn lọc con giống, nhân giống và lai tạo giống, cải tiến và nâng cao chất lượng giống.

Người Trung Quốc đã tiến hành thuần hóa thú rừng và chăn nuôi các loài vật từ rất lâu. Tư tưởng về di truyền và chọn giống cũng được hình thành từ đó. Bộ “Tuởng Nguru Kinh” do Ninh Thích viết vào thế kỷ thứ 7 trước Công nguyên có thể xem là tài liệu đầu tiên trên thế giới viết về di truyền và chọn giống động vật (Trần Hưng Nhân, 1998). Thời Chiến Quốc có nhiều người nổi tiếng về tài xem tướng động vật. Vương Lương, Bá Nhạc, Hoàng Trục nổi tiếng về tài xem tướng ngựa. Lưu Trường Nho nổi tiếng xem tướng heo nái. Vinh Vương Chủ nổi tiếng xem tướng trâu bò (Trần Hưng Nhân, 1998).

Các đại biểu của trường phái Pythagore (500 năm trước CN) cho rằng các đặc tính hình thể của con được di truyền từ mẹ còn các tính chất thần kinh được di truyền từ cha (B. Novicki, 1985).

Hypokrates (460-377 trước CN) khẳng định cả con cái và con đực đều tạo thành tinh dịch và từ đó tạo thành cơ thể (B. Novicki, 1985).

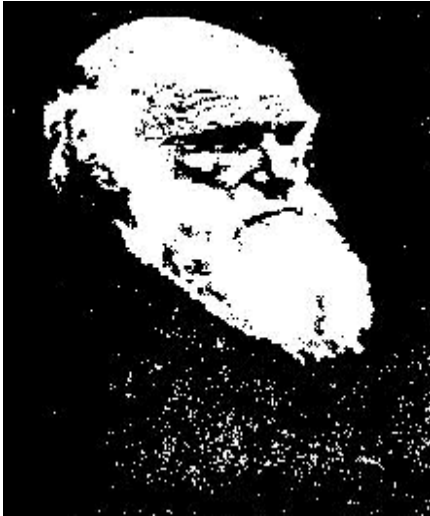
Arystoteles (364-322 trước CN) cho rằng bào thai phát triển từ tinh dịch của con đực, còn con cái chỉ giữ vai trò sinh con.

Thế kỷ thứ II trước Công nguyên, người La mã đã biết chọn lọc ngựa giống từ ngựa cha và mẹ.

Thế kỷ thứ X sau Công nguyên, người Ả Rập đã biết hiện tượng đồng huyết là có hại và không cho giao phối các ngựa có quan hệ huyết thống với nhau.

Năm 1859, học thuyết tiến hóa của Darwin được công bố trong tác phẩm “Nguồn gốc các loài”

Thế kỷ thứ XVII, nhà chọn giống người Anh R. Bakewell (1725-1795) đã biết tạo giống cao sản, ông đã tạo được bò sừng dài, cừu Leicester, chọn bố, mẹ tốt để nhân giống....



C. Darwin (1809-1882) đã phát triển học thuyết pangen trong tác phẩm “Sự biến đổi của các động vật và thực vật trong nuôi trồng”.

Theo ông, mỗi một phần của cơ thể sinh sản ra những phần tử nhỏ là gemmule (mầm) theo máu từ các phần của cơ thể tập trung về cơ quan sinh dục. Mỗi cá thể sinh ra do sự hòa hợp tính di truyền của cả cha lẫn mẹ và cả tính tập nhiễm

Hình 1. C. Darwin (1809-1882)

Năm 1866, Gregor Mendel (1822-1884) công bố kết quả lai đầu tiên trên cây đậu Hà Lan (*Pisum sativum*) tại Hội nghị các nhà tự nhiên học thành phố Brno và sau đó không được chấp nhận do chưa có cơ sở để giải thích qui luật Mendel.

Weismann (1834-1914) nghiên cứu hiện tượng phối hợp của giao tử và xác định vai trò của con cái và con đực trong việc hình thành cá thể mới.

Năm 1900, Hugo De Vries, Carl Correns và Erich Tschermak độc lập nhau và công bố các công trình liên quan đến việc phát hiện lại công trình của Mendel. Từ đó Mendel trở thành người sáng lập di truyền học và các qui luật Mendel trở thành qui luật di truyền cơ bản.

Mc Clung (1902) chứng minh cơ chế xác định giới tính do nhiễm sắc thể.

Năm 1908, Hardy-Wanberg đồng thời và độc lập nhau công bố qui luật liên quan đến di truyền trong quần thể và được gọi là định luật cân bằng di truyền, hay định luật Hardy-Wanberg.

Nhà di truyền học người Anh W. Bateson đưa ra tên gọi Di truyền học (genetics), liên quan đến nguồn gốc, sinh sản) vào năm 1906.

Năm 1909, nhà khoa học Đan Mạch W. Johannsen nêu ra các thuật ngữ như Gen (dòng giống, sinh sản, bắt nguồn), kiểu gen (genotype) và kiểu hình (phenotype).



Hình 2. H. de Vries



Hình 3. E.K. Correns



Hình 4. E. Tschermak



Hình 5. W. Bateson



Hình 6. W. Johannsen

Năm 1927, Muller gây đột biến bằng tia X. Năm 1918, Fisher công bố các kết quả đầu tiên liên quan đến tính trạng số lượng. Năm 1937, J.L. Lush xuất bản quyển “Animal Breeding Plans”, tác phẩm kinh điển đầu tiên về công tác giống ở Châu Âu và các phương pháp của tác giả đã nhanh chóng phổ biến và tác dụng lớn trong chăn nuôi gia súc.

Năm 1944, McLeod, Avery, McCarty đã chứng minh vai trò của DNA trong hiện tượng biến nạp, đây là cơ sở để chuyển ghép gen trong kỹ thuật di truyền.

Năm 1953, J. Watson và F. Crick đưa ra mô hình cấu trúc phân tử DNA, nghiên cứu di truyền học chuyển sang giai đoạn mới, giai đoạn di truyền phân tử.

Trong những năm 70, kỹ thuật di truyền ra đời, người ta đã áp dụng những thành tựu của di truyền vào công tác giống động vật như cấy truyền phôi, chuyển gen, ghép gen...

Di truyền học là cơ sở khoa học của chọn và nhân giống vật nuôi. Các thành tựu của di truyền học được ứng dụng sớm, nhanh và nhiều hơn trong chọn giống. Kiến thức di truyền học là cơ sở để xây dựng các phương pháp lai tạo và cải thiện giống, phương pháp chọn lọc, tạo vật liệu ban đầu Từ năm 1950 trở về sau này con người đã áp dụng các nguyên tắc của di truyền số lượng để chọn lọc đối với các loài; Watson-Crick phát hiện cấu trúc DNA; Hendersen đã ứng dụng phương pháp xác định giá trị giống (giá trị di truyền) vào thực tiễn công tác giống gia súc; ứng dụng cấy truyền phôi từ những con đực, con cái cao sản, thông tin di truyền đi sâu vào sản xuất trong việc chọn giống vật nuôi theo phẩm chất của sản phẩm.

Từ năm 2000 trở lại nay, di truyền học tiếp tục sử dụng các tín hiệu di truyền phân tử, áp dụng phương pháp DNA tái tổ hợp, thực hiện cấy truyền gen nhằm tạo ra những giống mới, sản phẩm mới có chất lượng cao. Sự phát triển của di truyền học và những thành tựu của nó đã góp phần tạo ra cơ sở khoa học vững chắc và ngày càng được ứng dụng rộng rãi trong thực tiễn chọn và nhân giống vật nuôi, đem lại những lợi ích ngày càng nhiều cho sản xuất và đời sống con người.

Chương 1

CƠ SỞ DI TRUYỀN CÁC TÍNH TRẠNG Ở ĐỘNG VẬT

Tại sao con cái giống bố mẹ, con cháu giống tổ tiên, đó là câu hỏi từ xa xưa loài người đã đề cập đến, nhưng mãi đến năm 1865, khi công trình nghiên cứu của G. Mendel ra đời mới giải thích được. Từ các thí nghiệm sáng tạo và chính xác, Mendel đã chứng minh nhân tố di truyền có ở bố mẹ đã truyền lại cho con cái thông qua các giao tử. Công trình nghiên cứu của Mendel với 3 qui luật di truyền: tính trội ở thế hệ 1, phân ly tính trạng ở thế hệ 2 và di truyền độc lập, tổ hợp tự do cũng như các hình thức tương tác gen đã chứng minh được khá đầy đủ cơ chế di truyền và biến dị ở sinh vật.

Ở sinh vật, ngoài các tính trạng chất lượng (tính trạng Mendel) còn có các tính trạng thể hiện bằng các số liệu cân đong, đo đếm (tính trạng số lượng). Ngành di truyền học có liên quan đến các tính trạng số lượng gọi là di truyền học số lượng (Quantitative genetics) hay di truyền sinh trắc (biometrical genetics).

Khác với tính trạng chất lượng, tính trạng số lượng do nhiều gen điều khiển (polygen), chịu ảnh hưởng lớn của điều kiện ngoại cảnh. Di truyền học số lượng vẫn lấy các qui luật Mendel làm cơ sở nhưng do tính đặc thù của tính trạng số lượng là nghiên cứu trên đám đông cá thể và sử dụng các phương pháp đo lường, nên có sự khác hơn so với các phương pháp cổ điển. Cơ sở lý thuyết của di truyền học số lượng được thiết lập khi công trình nghiên cứu của Fisher (1918), Wright (1926), Haldane (1932) và Lush (1937). Sau đó môn di truyền học số lượng được bổ sung, nâng cao bởi các nghiên cứu khác của các nhà di truyền học và sự tham gia đặc biệt của các nhà thống kê (statistics) và sinh trắc học (biometrics), đến nay ngành này đã có cơ sở lý luận vững chắc và trở thành công cụ hữu hiệu, ứng dụng trong việc đánh giá, chọn lọc và nhân giống.

1. Di truyền các tính trạng Mendel.

1.1 Sơ lược tiểu sử và công trình nghiên cứu của Mendel

Gregor Mendel, sinh ngày 22 tháng 7 năm 1822, mất năm 1884. Ông sinh ra cùng thời với L.Pasteur (1822 - 1895), Darwin (1809 - 1882).

Johan Mendel sinh ra trong một gia đình nông dân nghèo ở Silesie, nay thuộc Brno (Czech). Ông vào tu viện Brno và tiếp tục học và trở thành nhà giáo. Tu viện đặt tên Gregor Mendel. Ông là tu viện sĩ của tu viện St. Thomas ở Brno (Áo) từ năm 1851-1853.



Khi trở về ông dạy các môn toán, vật lý và một số môn học khác. Mendel tiến hành thí nghiệm trên đậu Hà lan (*Pisum sativum*) từ năm 1856 đến năm 1863 trên mảnh vườn nhỏ trong tu viện. Ông đã trồng 37.000 cây và quan sát trên 300.000 hạt. Các kết quả nghiên cứu được trình bày trước “Hội các nhà tự nhiên học” ở Brno vào năm 1865 và được công bố năm 1866. Mendel đã nhờ có phương pháp thí nghiệm độc đáo, chứng minh sự di truyền do các

Hình 7. G. Mendel (1822-1884). nhân tố (element) di truyền và dùng các ký hiệu đơn giản để biểu thị các qui luật di truyền. Phát minh này đặt nền móng cho di truyền học.

Trong thí nghiệm, Mendel chọn đối tượng nghiên cứu là cây đậu Hà lan (*Pisum sativum*), đây là mẫu thuận lợi cho nghiên cứu di truyền vì:

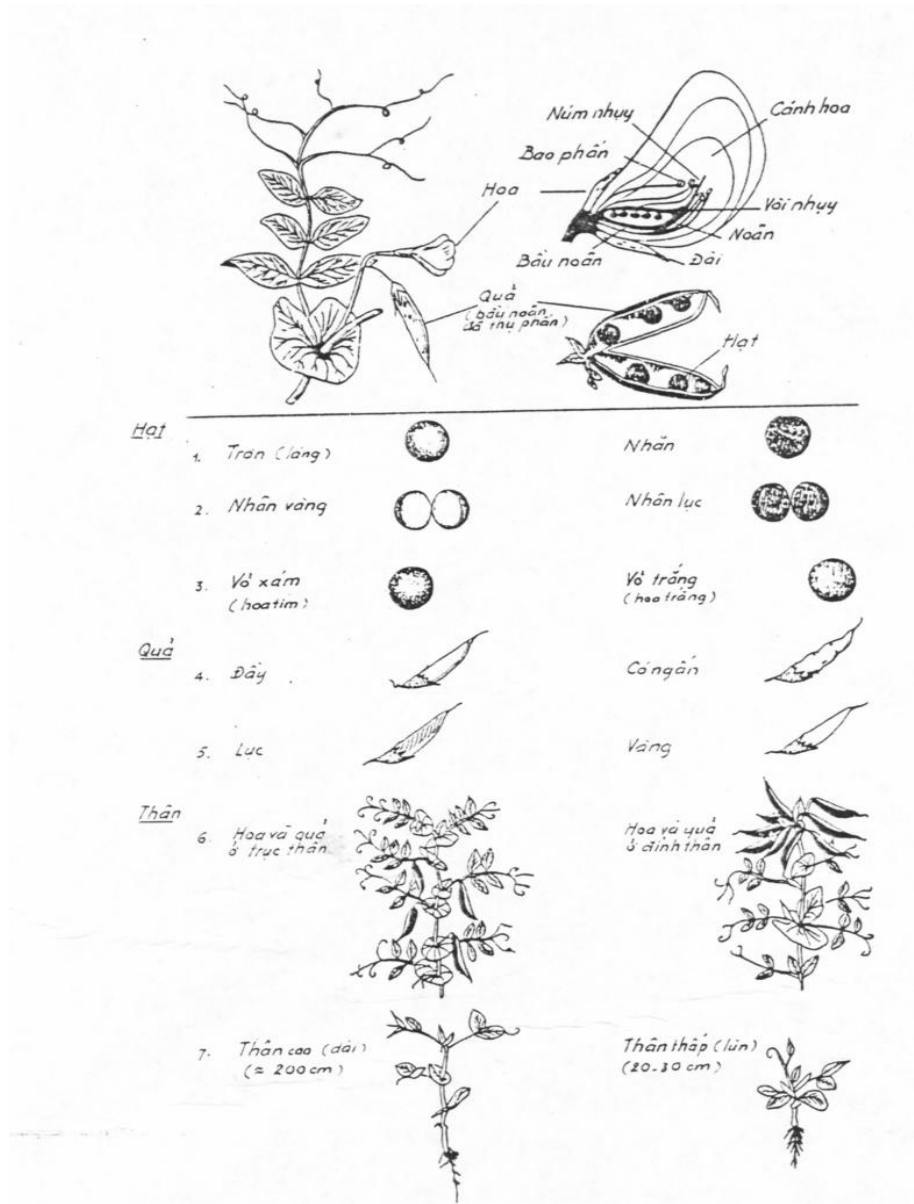
- Dễ trồng và có nhiều thứ (dòng) phân biệt rõ ràng.
- Cây hàng năm (thời gian sinh trưởng ngắn), quay vòng thế hệ tương đối nhanh.
- Có những tính trạng biểu hiện rõ (trương phản).
- Tự thụ phấn nghiêm ngặt nên dễ tạo dòng thuần.

Khi quan sát các loài sinh vật khác nhau, sẽ thấy chúng có những nét dễ dàng nhận biết, đó là các tính trạng (character) hay dấu hiệu (trait). Mendel đã chọn 7 cặp tính trạng chất lượng, trương phản: hạt trơn-nhăn; hạt vàng - lục; vỏ xám-trắng; quả đầy-ngắn; quả lục-vàng; hoa ở thân- ở đỉnh; thân cao-thấp.

Phương pháp thí nghiệm của Mendel có khác hơn so với các nhà khoa học trước đó:

- Thứ nhất, vật liệu nghiên cứu phải thuần chủng, biết rõ nguồn gốc.

- Thứ hai, theo dõi riêng từng cặp tính trạng qua nhiều thế hệ nối tiếp nhau.



Hình 8. Các cặp tính trạng Mendel ở *Pisum sativum*

- Thứ ba, đánh giá khách quan kết quả và tính tỷ lệ chính xác đời con thu được.

- Thứ tư, sử dụng ký hiệu và công thức toán học để biểu thị kết quả thí nghiệm. Ông là người đầu tiên dùng ký hiệu chữ để biểu thị các nhân tố di truyền.

Vào năm 1865, G. Mendel là người đầu tiên phát hiện ra các qui luật di truyền, nhưng không được công nhận. Mãi đến năm 1900, Hugo de Vries (Hà lan), E.K Correns (Đức) và Tchermak (Áo) độc lập với nhau đã phát hiện lại các qui luật di truyền Mendel. Năm 1900 đánh dấu sự ra đời của di truyền học và các qui luật Mendel trở thành các qui luật di truyền cơ bản.

Năm 1902, W. Bateson, L. Cuenot chứng minh các qui luật di truyền Mendel trên đối tượng động vật. Tiếp theo các hiện tượng tương tác gen được phát hiện và bổ sung thêm cho các qui luật di truyền Mendel.

1.2 Các qui luật di truyền cơ bản của Mendel.

1.2.1 Qui luật tính trội và đồng nhất ở thế hệ F_1 .

Hiện tượng trội lặn được Mendel phát hiện khi tiến hành các công thức lai đầu tiên trên đậu Hà lan (*Pisum sativum*). Ông đưa ra khái niệm dòng thuần, dòng bố mẹ trước khi đem lai có các tính trạng khác nhau (tương phản), ký hiệu thế hệ xuất phát (bố mẹ) là P (parent), các thế hệ kế tiếp là thế hệ con cháu (filia) và ký hiệu là F.

Khi cho lai cá thể bố mẹ (P) có các tính trạng tương phản, Mendel nhận thấy chỉ có một tính trạng xuất hiện ở thế hệ F_1 và ông gọi đó là tính trạng trội (dominant character), còn tính trạng không xuất hiện là tính trạng lặn (recessive character). Kết luận này được Correns phát hiện lại và được phát biểu như sau: *khi cho lai hai cá thể thuần chủng khác nhau về một cặp tính trạng tương phản, các cá thể F_1 có kiểu hình đồng nhất của tính trạng trội.*

1.2.2 Qui luật phân ly tính trạng ở F_2 .

Một vấn đề đặt ra là, liệu tính trạng lặn có mất đi trong cơ thể F_1 hay không?. Bằng cách cho cây lai F_1 tự thụ phấn, Mendel nhận được F_2 , ông nhận thấy ở F_2 , bên cạnh cây có kiểu hình trội còn xuất hiện một số cây có kiểu hình lặn. Điều đó chứng tỏ tính trạng lặn không bị mất đi mà vẫn tồn tại trong cơ thể F_1 ở dạng ẩn. Khi tính toán, ông nhận được tỷ lệ trội-lặn xấp xỉ 3: 1 (3 trội : 1 lặn).

Về sau, Corren gọi định luật thứ hai của Mendel là định luật phân ly tính trạng và được phát biểu như sau: *khi cho các cá thể F₁ tự thụ phấn thì các con lai F₂ sẽ phân ly theo tỷ lệ 3: 1 (3 trội : 1 lặn) về kiểu hình và 1: 2: 1 về kiểu di truyền (kiểu gen).*

Bảng 1. Các kết quả lai đơn tính của Mendel

TT	Tổ hợp lai-P	Thế hệ F ₁	Tỷ lệ ở F ₂
1	Hạt trơn x Hạt nhăn	Hạt trơn	2,96 : 1
2	Hạt vàng x Hạt lục	Hạt vàng	3,01 : 1
3	Vỏ xám x Vỏ trắng	Vỏ xám	3,15 : 1
4	Quả đầy x Quả ngấn	Quả đầy	2,95 : 1
5	Quả lục x Quả vàng	Quả lục	2,82 : 1
6	Hoa ở thân : Hoa ở đỉnh	Hoa ở thân	3,14 : 1
7	Thân cao x Thân thấp	Thân cao	2,84 : 1
	Tổng cộng		2,98 : 1

Từ những kết quả này, Mendel đã phát triển 4 giả thuyết:

1. Các tính trạng được xác định bởi các nhân tố di truyền (ngày nay gọi là các gen). Có các dạng xen nhau của các nhân tố (sau này gọi là các alen), những đơn vị xác định các tính trạng tương phản.

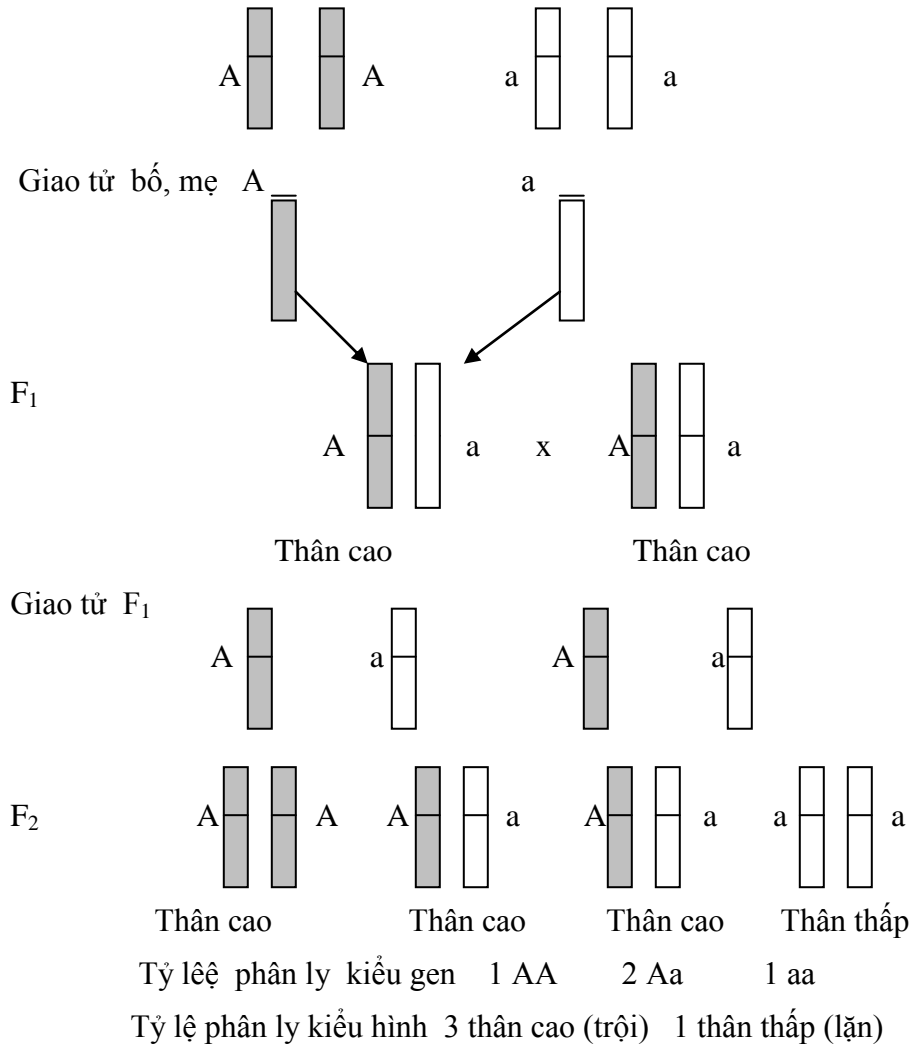
2. Đối với mỗi tính trạng di truyền, cơ thể có hai nhân tố, mỗi nhân tố là từ một cha mẹ. Các nhân tố này có thể cả hai là giống nhau hoặc chúng có thể là hai dạng khác nhau

3. Tinh trùng và noãn chỉ mang một nhân tố cho mỗi tính trạng di truyền, bởi vì các cặp nhân tố phân ly nhau trong quá trình hình thành giao tử. Mendel cũng giả định rằng, khi tinh trùng và noãn kết hợp với nhau trong thụ tinh thì mỗi loại đòng góp nhân tố di truyền của mình, như vậy sẽ phục hồi trạng thái từng cặp ở đời con.

4. Khi hai nhân tố của cặp là các dạng khác nhau, thì một được biểu hiện hoàn toàn còn dạng kia không có hiệu quả đáng kể trong sự biểu hiện bề ngoài cơ thể. Các dạng này được gọi là trội và lặn một cách tương ứng.

Giải thích của Mendel về tỷ lệ phân ly 3:1 theo quan điểm tế bào học.

Thí dụ: P Đậu Hà lan thân cao x Thân thấp



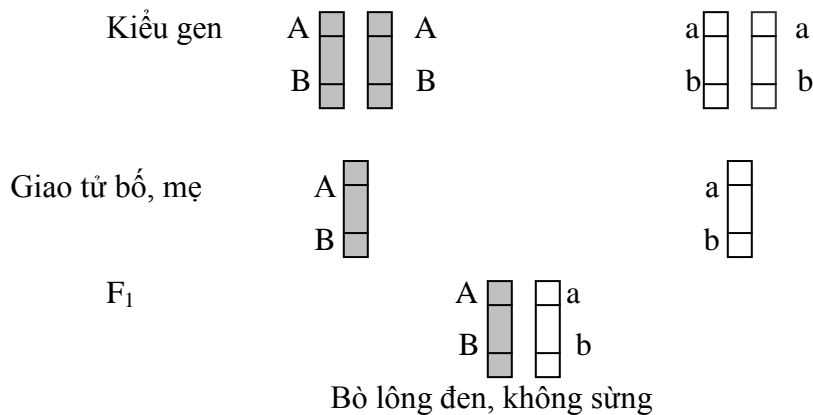
1.2.3 Qui luật phân ly độc lập (di truyền độc lập).

Ở trên chúng ta đã xét phương thức di truyền theo kiểu hoạt động của một cặp tính trạng tương phản. Để xác định sự di truyền trong trường hợp có nhiều hơn một cặp tính trạng tương phản, Mendel đã lai giữa các cây bố mẹ khác nhau về hai hay ba cặp tính trạng tương phản. Kết quả ở cây lai F₁ sẽ đồng nhất về tính trạng trội, trong khi ở F₂ có kiểu hình và kiểu gen là tích xác suất của từng giao tử ở thế hệ F₁.

Thí nghiệm của Mendel lai hai cặp tính trạng tương phản (cây đậu Hà lan có hạt trơn-vàng với cây đậu có hạt nhăn-lục). Kết quả F₁ cho hoàn toàn cây có hạt trơn-vàng, còn ở thế hệ F₂ tác giả nhận được tỷ lệ phân ly rất khác biệt: 9 tổ hợp cây có hạt trơn - vàng : 3 tổ hợp cây có hạt trơn - lục : 3 tổ hợp cây có hạt nhăn - vàng : 1 tổ hợp cây có hạt nhăn - lục.

Khi lai hai giống bò Aberdeen Angus có màu lông da đen và không sừng với bò Shorthorn có màu lông da đỏ và có sừng. Thu được tất cả con lai F₁ đều màu lông da đen và không sừng (trội), F₂ nhận được 9 bò lông da đen, không sừng, 3 bò lông da đỏ, không sừng, 3 bò lông da đen, có sừng và 1 bò lông da đỏ, có sừng.

Lai bò A. Angus lông đen, không sừng x bò Shorthorn lông đỏ, có sừng



Xác định tỷ lệ phân ly ở F₂, chúng ta có thể sử dụng phương pháp kẻ khung Punnett (bảng 2).

Bảng 2. Phân ly khi lai hai cặp tính trạng

Giao tử Giao tử từ mẹ	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

Kết quả nhận được 9 A-B- (bò lông đen, không sừng) : 3 A-bb (bò lông đen, có sừng) : 3 aaB- (bò lông đỏ, không sừng) : 1 aabb (bò lông đỏ có sừng). Tỷ lệ phân ly kiểu hình 9:3:3:1.

Tỷ lệ phân ly kiểu gen 1 AABB : 2 AABb : 2 AaBB : 4 AaBb : 1 AAbb : 1 aaBB : 2 Aabb : 2 aaBb : 1 aabb.

Nguyên nhân dẫn đến kết quả này là do các nhân tố di truyền (gen) điều khiển các tính trạng độc lập với nhau, còn nếu chúng phụ thuộc nhau sẽ không cho kết quả trên. Do đó qui luật này được gọi là qui luật phân ly độc lập hay di truyền độc lập. Qui luật này có thể được phát biểu như sau: *Khi lai hai cá thể khác nhau hai hay nhiều tính trạng tương phản thì các cặp tính trạng được di truyền độc lập nhau.*

1.2.4 Công thức lai đa tính trạng

Việc phân tích di truyền của một cặp tính trạng đã giúp Mendel và các nhà di truyền học hiểu được sự di truyền của hai hay nhiều cặp tính trạng tương phản trong các phép lai hai hay nhiều tính (đa tính trạng).

Bảng 3. Phân ly đa tính trạng.

Số các cặp gen tương phản dị hợp	Số loại giao tử được hình thành ở F ₁	Số lớp kiểu gen ở F ₂	Tỷ lệ phân ly kiểu hình ở F ₂	Tỷ lệ phân ly kiểu gen ở F ₂
1	2 ¹	3 ¹	(3:1) ¹	(1:2:1) ¹
2	2 ²	3 ²	(3:1) ²	(1:2:1) ²
3	2 ³	3 ³	(3:1) ³	(1:2:1) ³
:	:	:	:	:
:	:	:	:	:
n	2 ⁿ	3 ⁿ	(3:1) ⁿ	(1:2:1) ⁿ

Chẳng hạn, như tỷ lệ phân ly 3:1 về kiểu hình ở F₁ trong phép lai một cặp tính trạng tương phản. Tỷ lệ này ngày nay được hiểu rất rõ là kết quả phân ly chính xác của một cặp nhiễm sắc thể tương đồng trong giảm phân và sự kết hợp ngẫu nhiên của các giao tử trong thụ tinh. Với hai cặp tính trạng, tỷ lệ phân ly trên là 9 : 3 : 3 : 1, tức là (3:1)² và với n cặp gen dị hợp thì công thức phân ly kiểu hình ở F₂ sẽ là (3:1)ⁿ. Với cách lý giải tương tự, ta sẽ có các công thức cơ bản trong trường hợp lai nhiều tính trạng.

2. Sự tương tác gen làm sai lệch tỷ lệ phân ly Mendel.

2.1. Giữa các alen thuộc cùng 1 locus.

2.1.1 Trường hợp trội không hoàn toàn.

Trội không hoàn toàn là hiện tượng một alen lấn át không hoàn toàn alen khác cùng locus với nó. Kết quả dị hợp có kiểu hình trung gian giữa hai kiểu hình đồng hợp trội và lặn. Do vậy, kết quả phân ly kiểu hình ở F_2 không phải là 3:1 mà là 1:2:1.

Thí dụ: cho lai giữa bò có lông đen với bò có lông đỏ. F_1 nhận được bò có lông màu trung gian, F_2 phân ly theo tỷ lệ 1 tổ hợp có lông màu đen : 2 tổ hợp có lông trung gian : 1 tổ hợp có lông màu đỏ.

P.	Bò có lông màu đen	x	Bò có lông màu đỏ
	AA		aa
F_1	Aa	x	Aa
	Bò có lông màu trung gian		
F_2 Phân ly kiểu gen	1 AA	:	2 Aa : 1 aa
Phân ly kiểu hình	1 trội	:	2 trung gian : 1 lặn

Sở dĩ nhận được kết quả trên là do, alen A qui định lông màu đen, a qui định lông màu đỏ, A không lấn át hoàn toàn a do đó kiểu gen dị hợp Aa cho màu lông trung gian. F_1 nhận được bò có lông màu trung gian, F_2 phân ly theo tỷ lệ 1 có lông màu đen : 2 có lông màu trung gian : 1 có lông màu đỏ.

2.1.2 Ảnh hưởng của các gen gây chết.

Gen gây chết là gen nếu ở trạng thái đồng hợp sẽ có tác dụng gây chết ở các giai đoạn khác nhau. Nếu gây chết xảy ra ở giai đoạn trong bào thai thì cá thể đó sẽ không được sinh ra và làm thay đổi tỷ lệ phân ly Mendel. Còn nếu gây chết xảy ra ở giai đoạn ngoài thai thì không làm thay đổi tỷ lệ phân ly Mendel lúc sơ sinh, nhưng làm giảm sức sống, giảm tuổi thọ của cá thể có mang gen đó.

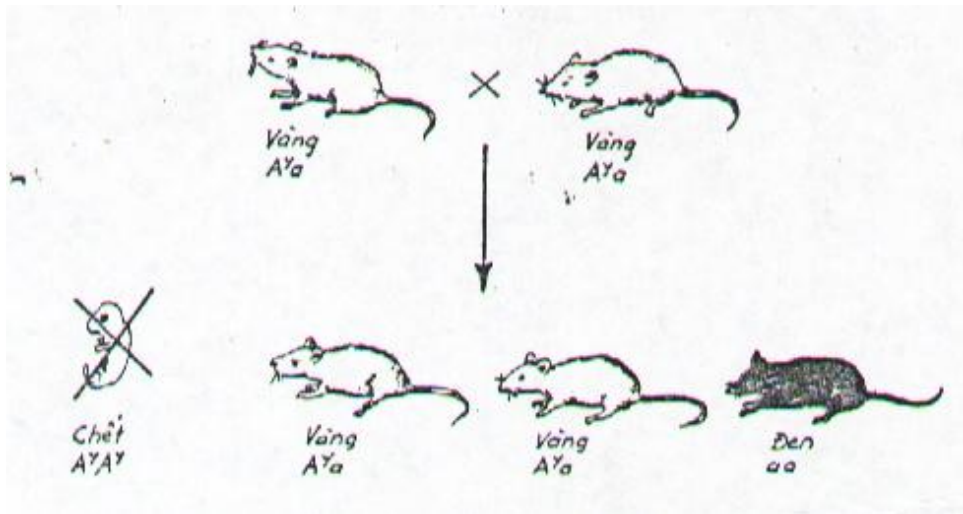
Thí nghiệm của Cuenot về màu sắc lông chuột. Khi cho lai giữa chuột có lông màu vàng với nhau, ông nhận thấy ở đời con xuất hiện hai dạng màu lông vàng và đen với tỷ lệ 2:1. Giải thích hiện tượng này, tác giả cho rằng màu lông vàng của chuột là dị hợp thể, còn lông đen là đồng hợp

lặn còn đồng trội có tác dụng gây chết trong giai đoạn bào thai, nên không được sinh ra. Do đó, kết quả phân ly ở đời sau chỉ còn 2:1.

Sơ đồ lai. P chuột vàng $A^Y a$ x chuột vàng $A^Y a$

Kiểu gene ở đời con 1 $A^Y A^Y$: 2 $A^Y a$: 1 aa

AA đồng hợp trội gây chết 2 chuột vàng : 1 chuột đen



Hình 9. Thí nghiệm ảnh hưởng của gen gây chết trội về màu lông chuột

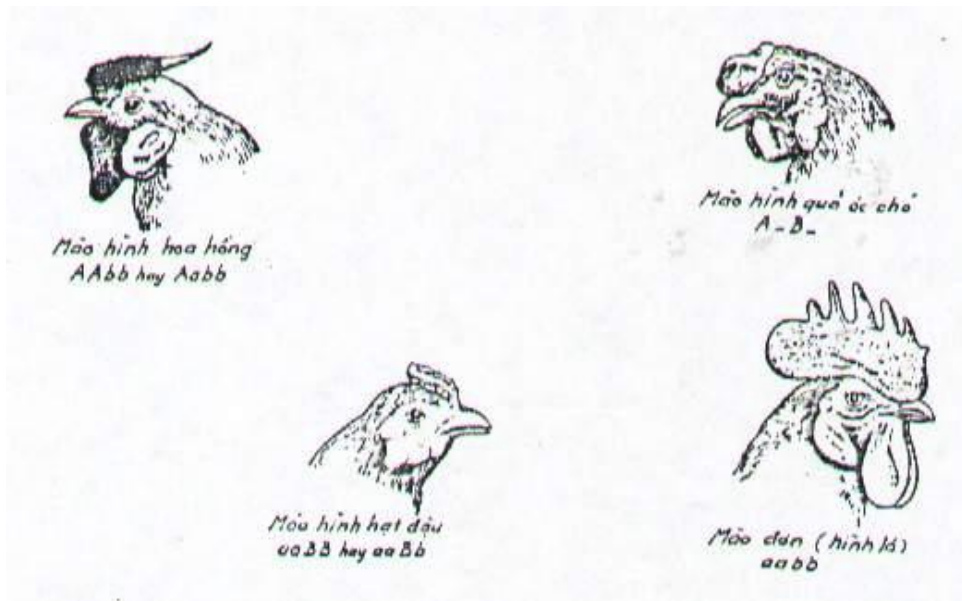
2.2 Tương tác giữa các alen thuộc các locus khác nhau (2 locus).

Khi phân tích di truyền ở đậu Hà lan, Mendel đã đề cập tới sự di truyền độc lập của các cặp nhân tố di truyền khác nhau (các cặp alen khác nhau) và tác động riêng rẽ của các cặp nhân tố đến các tính trạng. Song những nghiên cứu về sau cho thấy thực ra trong nhiều trường hợp các gen không alen có thể không tác động riêng rẽ mà tương tác với nhau để cùng xác định một tính trạng của cơ thể. Hiệu quả tương tác gen có thể diễn ra giữa các sản phẩm của gen để tạo nên kiểu hình mới.

2.2.1 Tương tác bổ trợ của gen (Complementary)

Thí nghiệm của Bateson về hình dạng mào gà. Cho lai giữa gà có mào hoa hồng ($AAbb$) với gà có mào hạt đậu ($aaBB$), kết quả F_1 cho gà có mào hình quả óc chó. Hình óc chó là kết quả tương tác bổ trợ giữa gen A-

B. Cho lai giữa gà F₁ có mào hình quả óc chó với nhau, nhận được F₂ phân ly theo tỷ lệ 9 hình óc chó (A-B-) : 3 hoa hồng (A-bb) : 3 hạt đậu (aaB-) : 1 hình lá (aabb).



Hình 10. Các dạng mào gà

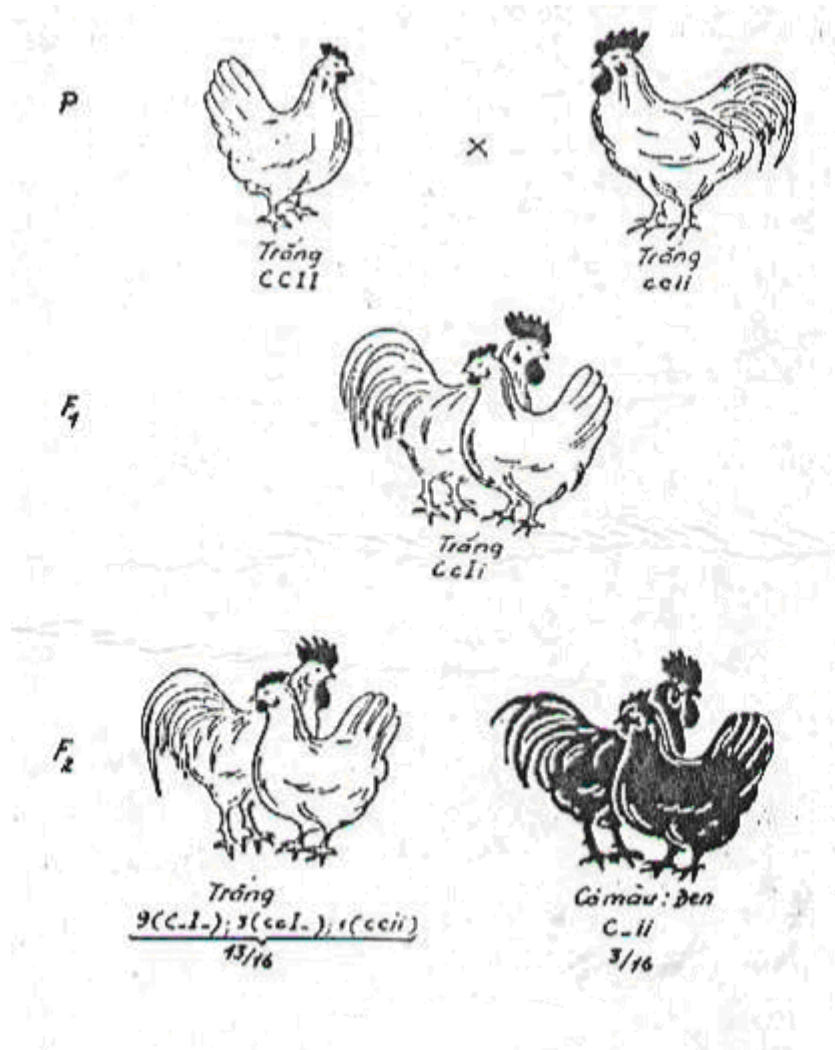
Tương tác bổ trợ là hiện tượng các gen đứng riêng lẻ không phát huy tác dụng, nhưng nếu cùng chung trong một kiểu gen, chúng sẽ tương tác với nhau, làm xuất hiện dạng kiểu hình mới. Các gen có tác dụng như vậy được gọi là gen bổ trợ. Có thể bổ trợ giữa các gen trội và cũng có thể bổ trợ giữa các gen lặn.

2.2.2 Tương tác át chế (Epistasis).

Át chế trội: là hiện tượng một gen trội át chế lại một gen trội khác không cùng alen với nó, làm cho gen đó không biểu hiện ra kiểu hình.

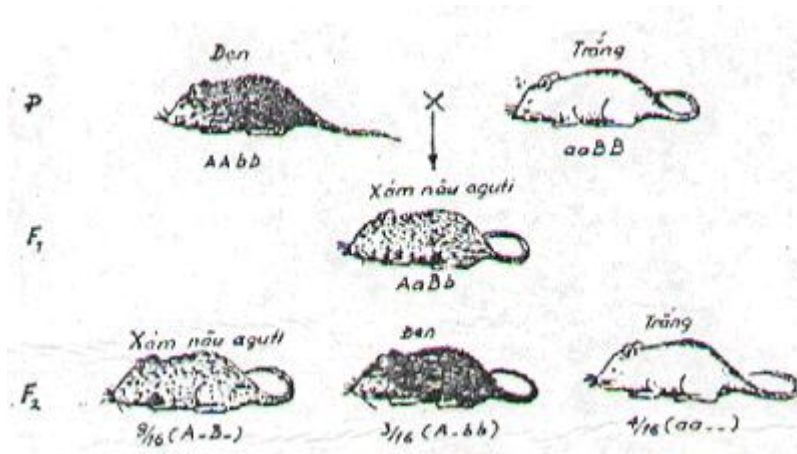
Thí nghiệm về màu lông gà. Cho lai giữa gà leghorn trắng (CCII) với gà lông màu trắng (ccii), F₁ nhận được gà có lông màu trắng (CcIi). Gen C tạo màu còn gen I át chế tạo màu. Cho lai giữa các gà F₁ (CcIi) với nhau,

nhận được F₂ phân ly theo tỷ lệ 13 gà lông màu trắng (C-I-, ccI-, ccii) : 3 gà lông có màu (C-ii).



Hình 11. Tương tác át chế trội về màu lông gà

Át chế lặn: Là hiện tượng một cặp gen lặn aa át chế một gen trội B, làm cho gen trội không biểu hiện ra kiểu hình.



Hình 12. Tương tác át chế lặn về màu lông chuột

Thí nghiệm về màu sắc lông chuột: cho lai giữa chuột có lông màu đen (AAbb) với chuột có lông màu trắng (aaBB), nhận được F₁ chuột có lông màu xám aguti (AaBb). Cho lai giữa chuột F₁ (AaBb) với nhau nhận được F₂ phân ly theo tỷ lệ 9 chuột có lông màu xám (A-B-) : 3 chuột có lông màu đen (A-bb) : 4 chuột có lông màu trắng (aaB-, aabb).

3. Ứng dụng định luật Mendel trong nhân giống động vật.

3.1 Lai phân tích để phát hiện mức độ thuần chủng của các giống.

Lai phân tích (Test-cross) là phương pháp cho lai giữa các cá thể F₁ với cá thể đồng hợp lặn. Kết quả nhận được tỷ lệ phân ly 1 (Aa) kiểu hình trội : 1 (aa) kiểu hình lặn.

Ứng dụng: Khi lai giữa lợn có lông màu trắng với lợn có lông màu đen, nếu đời con sinh ra đồng nhất có lông màu trắng thì màu trắng là đồng hợp (thuần chủng), còn nếu đời con sinh ra phân ly (xuất hiện cả lông trắng và lông đen) thì màu lông trắng ở thế hệ bố mẹ là dị hợp (không thuần chủng).

3.2. Hồi giao để tăng mức độ trội về một đặc điểm nào đó (số lượng) ở đời con.

Hồi giao (back cross) là phép lai giữa cá thể F₁ với cá thể đồng hợp trội, đời con nhận được đồng nhất về kiểu hình trội (không xuất hiện kiểu hình lặn).

Ứng dụng: Cho lai giữa lợn F₁ (Yorkshire x Móng cái) với lợn Yorkshire, nhận được con lai có tỷ lệ di truyền 3/4 Yorkshire và 1/4 Móng cái. Con lai này có đặc điểm giống với lợn Yorkshire nhiều hơn (tăng trọng nhanh hơn, tỷ lệ nạc cao hơn F₁).

4. Di truyền các tính trạng đa alen ở động vật

4.1. Khái niệm về gen đa alen và dãy đa alen.

Gen đa alen là gen mà do đột biến, hình thành nhiều trạng thái bên vũng của một gen qui định các trạng thái khác nhau về kiểu hình tính trạng. Ví dụ: gen A có các trạng thái A₁, A₂, A₃ ...A_n. Các trạng thái khác nhau của một gen lập thành dãy alen. Nếu trong dãy đó có từ 3 alen trở lên được gọi là dãy đa alen.

Số lượng các kiểu gen được hình thành trong một quần thể có dãy đa alen là do số lượng các alen qui định. Nếu chỉ có 1 alen A thì hình thành 1 kiểu gen AA. Với 2 alen A₁ và A₂ thì hình thành 3 kiểu gen A₁A₁, A₁A₂ và A₂A₂. Với 3 alen A₁, A₂, A₃ có thể hình thành 6 kiểu gen A₁A₁, A₂A₂, A₃A₃, A₁A₂, A₁A₃, A₂A₃. Với n alen, sẽ hình thành $\frac{n(n+1)}{2}$ kiểu gen, trong đó có n đồng hợp thể và $\frac{n(n-1)}{2}$ dị hợp thể.

Hiện tượng dãy nhiều alen trong quần thể sinh vật là một trong những hiện tượng quan trọng trong biến dị di truyền của sinh vật. Mỗi gen có thể biến đổi rất đa dạng, ảnh hưởng rất khác nhau lên sự phát triển của tính trạng.

Dãy nhiều alen làm tăng lên các biến dị tổ hợp của các sinh vật. Các biến dị này được hình thành không chỉ do sự phân ly của 1 cặp alen, mà do sự tổ hợp của nhiều alen trong dãy nhiều alen, sự tổ hợp vô cùng đa dạng giữa các alen này với các alen khác, ở các locus khác nhau dẫn đến tính đa hình trong sinh giới.

Dãy nhiều alen ở các quần thể sinh vật nói chung và động vật nói riêng ngày càng được phát hiện thêm nhiều, trên các loại gen khác nhau, tại các locus khác nhau, qua các công trình điều tra cơ bản và đặc biệt nhờ các phương pháp phân tích mới, hiện đại.

4.2. Dãy nhiều alen về hemoglobin ở bò và lợn.

Trong quá trình phát triển cá thể ở bò và một số loài gia súc khác, người ta phát hiện 3 dạng hemoglobin.

Hemoglobin phôi (HbF) ở bò được phát hiện 2 dạng, dạng xuất hiện lúc 4 tuần sau thụ thai và mất đi lúc 6-10 tuần tuổi sau khi sinh (Kleihauer, Stoffler, 1968, Kichen, 1970)

Người ta cũng thấy có sự thay thế cho nhau giữa HbF và HbA (dạng hemoglobin trưởng thành) trong những tháng đầu sau khi bê sinh ra. Thời gian thay thế HbF hoàn toàn bằng HbA cũng khác nhau giữa các giống bò. Kết quả phân tích hemoglobin trên bò nuôi ở Việt Nam cho thấy, ở bò thuộc các giống Sind và lai Hà-Ấn, từ 1-80 ngày tuổi, bên cạnh dạng HbA còn phát hiện cả HbF (Phan Cự Nhân, 1970).

Ở lợn trong các giai đoạn phôi sớm, cũng gặp 2 dạng hemoglobin phôi, tương tự Hb Grow 1 và Hb Grow II ở người (Kleihauer, Stoffler, 1968, Kichen, 1970, Đặng Hữu Lan, 1977). Thực nghiệm phân tích ở Việt Nam cho thấy, ở lợn Ỉ Nam Định, thời điểm xuất hiện dạng Hemoglobin trưởng thành xảy ra lúc phôi 24 ngày, trong khi đó ở lợn Đại Bạch là 30 ngày. Sự thay thế hoàn toàn HbF bằng HbA ở lợn Ỉ là lúc phôi 40 ngày, còn ở lợn Đại Bạch là 50 ngày. Hiện tượng này có thể hợp với qui luật sinh học là ở các động vật nhiệt đới có độ thành thực sinh dục sớm hơn thì quá trình thay thế này cũng sớm hơn so với các giống ôn đới.

4.3 Dây nhiều alen về nhóm máu.

Di truyền học ngày nay đã cho thấy, sự khác nhau giữa các cá thể gia súc về nhóm máu là do dây nhiều alen trong nhiễm sắc thể thường, qui định sự tạo thành kháng nguyên trong hồng cầu. Kháng nguyên là một loại protein khi có mặt trong hồng cầu, sẽ làm tạo thành một loại kháng thể đối lập với protein ấy.

Loại kháng nguyên nhóm máu có trong điều kiện tự nhiên và ứng với loại kháng nguyên ấy có một kháng thể, cũng được tạo thành trong điều kiện tự nhiên. Kháng nguyên nằm trong hồng cầu còn kháng thể nằm trong huyết thanh. Nếu kháng nguyên gặp kháng thể tương ứng sẽ gây hiện tượng ngưng kết (dung huyết).

Nhóm máu Lanstener là nhóm máu cơ bản ở người, gồm có nhóm máu A, trong hồng cầu có kháng nguyên A và trong huyết thanh có kháng thể β . Nhóm máu B, trong hồng cầu có kháng nguyên B và trong huyết thanh có kháng thể α . Nhóm máu AB trong hồng cầu có kháng nguyên A và B, trong huyết thanh không có kháng thể. Nhóm máu O trong hồng cầu không có kháng nguyên, nhưng trong huyết thanh có hai loại kháng thể α và β .

Cũng như các nhóm máu, tất cả các protein được kiểm soát bởi các alen khác nhau trong cùng một locus được thể hiện hệ thống protein đa hình. Ngoài ra trong các sản phẩm như sữa, cơ, trứng, tinh dịch và nhiều mô khác cũng có hiện tượng đa hình.

Trong công tác giống gia súc, các hệ thống nhóm máu và các protein đa hình được sử dụng để kiểm tra dòng bố, sự liên quan với bệnh tật, năng suất, nghiên cứu sinh đôi, sự tiến hóa và quan hệ di truyền giữa các giống.

4.5 Đa alen về màu sắc lông thỏ.

Ở thỏ, có các dạng màu lông: màu hoang dại, xám chinchila, himalaya và bạch tạng.

Khi cho lai thỏ hoang dại (CC) với xám chinchila ($C^{ch}C^{ch}$) nhận được thỏ F_1 hoàn toàn màu hoang dại (CC^{ch}). Như vậy, màu hoang dại là trội so với Chinchila.

Cho lai các thỏ F_1 (CC^{ch}) với nhau nhận được F_2 phân ly theo tỷ lệ 3 hoang dại : 1 chinchila.

Cho lai thỏ chinchila ($C^{ch}C^{ch}$) với thỏ himalaya (C^hC^h), nhận được thỏ F_1 hoàn toàn có màu chinchila. Như vậy màu chinchila trội hơn so với màu himalaya.

Cho lai các thỏ F_1 ($C^{ch}C^h$) với nhau, nhận được F_2 phân ly theo tỷ lệ 3 chinchila : 1 himalaya.

Cho lai giữa thỏ himalaya (C^hC^h) với thỏ bạch tạng (cc) nhận được F_1 (C^hc) hoàn toàn himalaya, chứng tỏ himalaya trội hơn so với bạch tạng. Cho lai các thỏ F_1 (C^hc) với nhau nhận được F_2 phân ly theo tỷ lệ 3 himalaya : 1 bạch tạng.

Kết quả các thí nghiệm trên chứng tỏ, các gen qui định màu sắc lông thỏ là các alen cùng một locus. Chúng ta có thể sắp xếp mức độ trội lặn của các alen như sau: $C > C^{ch} > C^h > c$.

<i>Kiểu gen</i>	<i>Kiểu hình</i>
CC, CC^{ch} , CC^h , Cc	Hoang dại
$C^{ch}C^{ch}$, $C^{ch}C^h$, $C^{ch}c$	Chinchila
C^hC^h , C^hc	Himalaya
Cc	Bạch tạng

4.6 . Di truyền màu sắc lông ở gia súc.

Màu sắc do một số ít gen kiểm soát nên có thể sử dụng để phân tích di truyền, dự đoán màu lông ở đời sau trong chọn lọc, chẳng hạn nuôi chó muốn có con “có sao” trên nền trắng thì không nhất thiết phải từ bố mẹ “có sao”. Ở động vật có vú, màu sắc lông da là do sắc tố melanin tạo thành. Ở gia cầm, ngoài melanin ra còn có xantophin từ thức ăn đưa vào.

Ở động vật có vú, đặc biệt ở chuột lang đã xác định được rằng, màu sắc muốn biểu hiện phải có gen trội C (từ chữ colour). Có 4 đột biến lặn xuất hiện từ locus này qui định các mức độ giảm khác nhau của màu lông. Alen Ca ở trạng thái đồng hợp tạo nên màu lông hầu như không có sắc tố (bạch tạng). Những alen khác trong locus này qui định các màu trung gian giữa sẫm màu và bạch tạng. Người ta phân loại các gen khác kiểm soát màu sắc lông theo tác động của chúng gây ra khi có mặt gen C như sau:

- Gen ảnh hưởng đến sự phân hóa màu trong cùng một chiếc lông.
- Gen qui màu của các loại sắc tố.
- Gen có ảnh hưởng lên độ sẫm của sắc lông mà không ảnh hưởng tới màu của sắc tố.
- Gen điều khiển sự phân bố lông hoặc từng mảng da có sắc tố và không có sắc tố.

4.6.1 Ở bò.

Màu lông bạch tạng rất ít gặp ở bò. Những thí nghiệm về chọn giống đã chứng minh rằng đó là do gen lặn kiểm soát. Những bê bạch tạng sống đến tuổi trưởng thành đều phản ứng ánh sáng mạnh và hoàn toàn khỏe mạnh không thua kém những con khác cùng sống trong một chuồng. Người ta cho rằng gen màu C, trong nhiều trường hợp đột biến thành alen lặn làm giảm, có khi mất hẳn màu. Cũng không loại trừ khả năng ở bò cũng có nhiều alen qui định màu sắc lông từ đậm đến không màu.

Màu lông đen và đỏ (vàng sẫm) Cơ chế di truyền màu lông đen và đỏ vẫn còn chưa thống nhất. Người ta cho rằng gen C tạo màu lông đen, còn các thể đồng hợp cc cho màu đỏ như đã thấy ở các gia súc khác. Mức độ màu lông đỏ, một phần do một cặp alen, trong đó alen lặn làm nhạt đi nhiều, phần khác do những gen gây biến đổi.

Màu lông nâu thường gặp nhiều dạng khác nhau. Kiểu di truyền của chúng hoàn toàn chưa được sáng tỏ, nhưng cũng không loại trừ khả năng

là lông nâu (lẫn lộn đen, đỏ) là do gen c^p , lẫn so với gen màu đen và trội so với gen màu hung và còn có thêm gen B thuộc loại khác tham gia vào đó.

Lông lang và các đốm trắng. Ở phần lớn các giống bò có nhiều con có những đốm trắng to, nhỏ khác nhau.

Sắc lông lang có thể thấy khác nhau ở từng con cũng như giữa các giống. Người ta cho rằng, sự khác nhau đó chỉ một phần do di truyền, bởi vì khi nghiên cứu các con vật sinh đôi cùng trứng thì thấy kiểu lông lang ít khi giống nhau về mặt phân bố các đốm. Ở những con vật sinh đôi có khi dạng lông giống nhau, có khi lại khác.

Năm 1948, Cole và Johanson nghiên cứu kĩ màu lông của con lai F_1 giữa bò lang đen trắng với bò Anberdeen Angus thì thấy tất cả các con lai ở vùng bụng, phía đuôi đều trắng. Khi cho các con lai giao phối với nhau thì thu được 3 màu đen tuyền hay có đốm trắng nhỏ : 1 màu lang. Như vậy, có thể gen màu lông lang s của bò không lẫn hoàn toàn.

Đường ranh giới những mảng đen-trắng ở bò không rõ rệt như nhau. Ở bò lang đen- trắng, đường đó rất rõ, còn ở bò lang trắng-đỏ (vàng) thì lại rất mờ. Khi cho lai hai loại này với nhau, con lai F_1 có đường phân chia lang đen-trắng rõ. Từ đây người ta cho rằng dạng lang đen-trắng do một gen trội kiểm soát, các alen xác định lang trắng-đỏ là lẫn

4.6.2 Ở lợn.

Ở lợn thường gặp màu lông đen, trắng và lang. Ở một vài giống lợn thường gặp có lông đen tuyền (lợn Ít Việt Nam, Đen lớn của Anh. Màu lông trắng ở lợn Yorkshire, lợn Landrace... hay lang đen - trắng như giống Berkshire của Anh, Mỹ, giống Móng Cái Việt Nam...).

Trái lại, lông màu hung ít khi gặp, đại diện của loại này như giống Duroc ở Mỹ và Temvocer ở Anh.

Tóm lại, di truyền màu sắc lông ở gia súc là tuân theo qui luật Mendel, là hiện tượng trội lẫn của gen alen.

5. Di truyền các tính trạng số lượng (Quantitative genetics).

5. 1. Tính trạng số lượng và đặc trưng của nó.

5.1.1 Định nghĩa.

Tính trạng số lượng là những tính trạng có biến dị liên tục do nhiều gen qui định. Các tính trạng này thường được xác định bằng các cách cân, đong, đo, đếm.

Ví dụ: tính trạng cân nặng, chiều đo, khả năng tăng trọng, sản lượng trứng ở gia cầm, sản lượng sữa ở bò, số con đẻ ra/lứa ở lợn...

5. 1.2 Đặc trưng của tính trạng số lượng.

- Là tính trạng đa gen (polygen), sự hình thành và biểu hiện của tính trạng do nhiều gen điều khiển.

- Là tính trạng có biến dị liên tục, sự thay đổi của tính trạng tạo thành dãy biến dị liên tục, rất khó phân biệt. Nếu sắp xếp các giá trị của nó lên đồ thị sẽ cho ta đường cong phân bố chuẩn.

- Là tính trạng chịu ảnh hưởng lớn của điều kiện ngoại cảnh. Trong điều kiện ngoại cảnh thuận lợi, tính trạng ít biến đổi còn trong điều kiện bất lợi, tính trạng rất dễ thay đổi.

Ví dụ: cho ăn tốt, khí hậu, thời tiết ổn định, qui trình chăm sóc phù hợp lợn sẽ cho tăng trọng cao còn trong điều kiện ăn kém, khí hậu, thời tiết khắc nghiệt, qui trình chăm sóc không phù hợp lợn sẽ cho tăng trọng trung bình hoặc thấp.

- Qui luật di truyền của tính trạng số lượng, ngoài qui luật Mendel còn có qui luật riêng, đó là di truyền trung gian, di truyền đa gen, phân ly tăng tiến.

5.2 Di truyền của tính trạng số lượng

5.2.1 Di truyền trung gian.

Khi cho lai giữa các cá thể bố mẹ có nguồn gốc khác nhau, con lai F_1 biểu thị trung gian giữa bố và mẹ. Các cá thể F_1 không đồng nhất như tính trạng Mendel và có sự khác nhau (biến thiên), nhưng khoảng biến thiên không lớn (hẹp).

Nếu cho lai giữa các cá thể F_1 , nhận được F_2 là trung gian giữa bố mẹ F_1 , nhưng khoảng biến thiên ở F_2 lớn hơn (rộng hơn) so với F_1 .

Thí dụ: Cho lai giữa lợn Yorkshire x lợn Móng cái.

Tăng trọng	600 g/ngày	300 g/ngày
F_1	$\frac{600+300}{2} = 450 \text{ g /ngày}$	
F_2	600 g/ngày	_____ 300 g/ngày

5.2.2 Di truyền đa gen.

Theo thuyết di truyền đa gen, tính trạng số lượng do nhiều gen điều khiển, mỗi gen có hiệu ứng nhỏ lên biểu hiện tính trạng. Kiểu hình của tính trạng là tổng hiệu ứng của các gen có trong kiểu gen cá thể.

Cũng ví dụ trên, hãy tính khả năng tăng trọng của lợn F_1 , F_2 . Giả sử tăng trọng/ngày của lợn được điều khiển bởi 3 đôi gen.

AABBCC	aabbcc
600 g/ngày	300 g/ngày

- Hiệu ứng của 1 gen trội: $\frac{600}{6} = 100 \text{ g / ngày}$

- Hiệu ứng của 1 gen lặn: $\frac{300}{6} = 50 \text{ g / ngày}$

- Tăng trọng của F_1 : $100 \text{ g/ngày} \times 3 + 50 \text{ g/ngày} \times 3 = 450 \text{ g/ngày}$.

Dãy biến thiên về tăng trọng ở F_2 .

Sử dụng nhị thức $(p+q)^n$, trong đó p là gen trội, q là gen lặn và n là số gen điều khiển tính trạng. Trong trường hợp trên ta có $(p+q)^6$, khai triển nhị thức ta được: $1p^6 + 6p^5q + 15p^4q^2 + 20p^3q^3 + 15p^2q^4 + 6pq^5 + 1q^6$

Như vậy, có 1 tổ hợp 6 gen trội: $100 \times 6 = 600 \text{ g/ngày}$

6 tổ hợp có 5 gen trội và 1 gen lặn: $100 \times 5 + 1 \times 50 = 550 \text{ g/ngày}$

15 tổ hợp có 4 gen trội và 2 gen lặn: $4 \times 100 + 2 \times 50 = 500 \text{ g/ngày}$

20 tổ hợp có 3 gen trội và 3 gen lặn: $3 \times 100 + 3 \times 50 = 450 \text{ g/ngày}$

15 tổ hợp có 2 gen trội và 4 gen lặn: $2 \times 100 + 4 \times 50 = 400 \text{ g/ngày}$

6 tổ hợp có 1 gen trội và 5 gen lặn: $1 \times 100 + 5 \times 50 = 350 \text{ g/ngày}$

1 tổ hợp có 6 gen lặn : $6 \times 50 = 300 \text{ g/ngày}$.

5.2.3 Sự phân ly tăng tiến.

Khi cho lai giữa các cá thể bố mẹ có nguồn gốc khác nhau, con lai F_1 biểu thị trung gian giữa bố và mẹ. Cho lai giữa các cá thể F_1 , nhận được F_2 , trong các cá thể F_2 có một số cá thể có năng suất rất cao (cao hơn bố, mẹ ở mức cao) và có một số cá thể có năng suất rất thấp (thấp hơn cả bố, mẹ ở mức thấp). Hiện tượng này người ta gọi là sự phân ly tăng tiến.

Ví dụ: AAbbCC x aaBBcc

F₁ AaBbCc (trung gian giữa bố và mẹ)

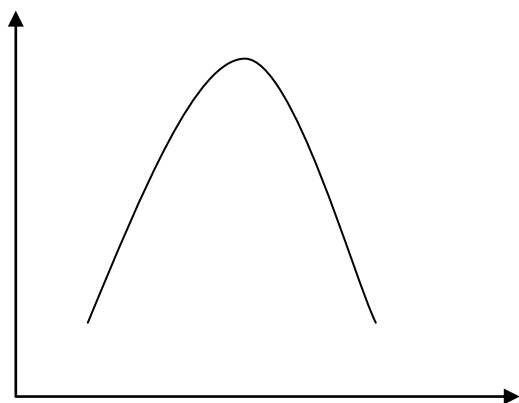
F₂ AABBCC AaBbCc aabbcc

└─ tăng tiến dương ─┘ └─ tăng tiến âm ─┘

5.3 Phương pháp nghiên cứu di truyền tính trạng số lượng.

5.3.1. Phân bố chuẩn (Normal distribution).

Khi nghiên cứu các tính trạng số lượng với số lượng cá thể lớn (vô hạn), đồ thị phân bố các giá trị trong đám đông có dạng hình chuông. Giá trị trung bình và xấp xỉ trung bình chiếm tỷ lệ (xác suất) lớn nhất, các giá trị rất cao hoặc rất thấp chiếm tỷ lệ (xác suất) rất nhỏ, đường thẳng vuông góc đi từ đỉnh đồ thị xuống trục hoành chia đồ thị ra hai phần bằng nhau. Đó là đồ thị phân bố chuẩn.



Hình 13. Đồ thị phân bố chuẩn

Giá trị hàm phân bố

F_x =

$$\frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^x e^{-\frac{(x-Mx)^2}{2\sigma^2}} dx$$

Phân bố chuẩn phụ thuộc vào 2 tham số: trung bình và kỳ vọng

$M_x = \mu$ và phương sai

$D_x = \sigma^2$.

5.3.2. Trung bình cộng và phương sai.

- Trung bình cộng: Là tỷ số giữa tổng giá trị của các cá thể nghiên cứu với số cá thể của mẫu.

Công thức tính: $\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n}$

Trung bình cộng được sử dụng để đánh giá mức độ tập trung, bản chất của đám đông số liệu.

- Phương sai: Là tỷ số giữa tổng bình phương các biến sai của từng trị số x_i xung quanh trung bình cộng và bậc tự do.

Công thức tính:

$$s^2 = \frac{(x_1 - \bar{X})^2 + (x_2 - \bar{X})^2 + \dots + (x_i - \bar{X})^2}{n-1} = \frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

Phương sai dùng để đánh giá mức độ phân tán (biến thiên) của đám đông số liệu

5.3.3 Phân tích phương sai (Analysis of variance).

Kiểu di truyền và môi trường đều có tác động lên sự hình thành và phát triển của tính trạng. Tuy nhiên trong sự biểu hiện của tính trạng thông qua kiểu hình, kiểu di truyền đóng vai trò chủ yếu, còn lại do ngoại cảnh và tương tác giữa di truyền và ngoại cảnh. Đối với các tính trạng số lượng, giá trị kiểu gen được tạo thành do hiệu ứng nhỏ của các gen, tập hợp lại thành hiệu ứng lớn. Trong chọn lọc gia súc, nghiên cứu các đặc điểm di truyền các tính trạng chính là nghiên cứu sự biến đổi của nó và tham số phương sai là tiêu biểu nhất.

Các thành phần của phương sai: Sai khác giữa các cá thể về giá trị kiểu hình với trung bình chung được đánh giá bằng phương sai tổng. Sai khác này do nhiều yếu tố ảnh hưởng, chủ yếu là di truyền và ngoại cảnh.

Căn cứ vào các nhân tố ảnh hưởng đến tính trạng số lượng (tăng trọng, sản lượng trứng, sản lượng sữa....) chúng ta có những thành phần phương sai như sau:

Trong trường hợp không có tương tác giữa di truyền và môi trường.

$$V_P = V_G + V_E.$$

Hay $V_P = V_A + V_D + V_I + V_E$

Trong đó V_P : Phương sai giá trị kiểu hình tính trạng.

V_G : Phương sai giá trị kiểu di truyền

V_E : Phương sai môi trường (sai lệch môi trường).

V_A : Phương sai giá trị cộng gộp (additive).

V_D : Phương sai giá trị trội (dominant)

V_I : Phương sai do tương tác gen (interaction).

Trong trường hợp có tương tác giữa di truyền và môi trường, ví dụ một bò sữa có sản lượng sữa cao hơn do cho ăn tốt hơn, hoặc kiểu di truyền A có thể ưu việt hơn kiểu di truyền B trong môi trường X nhưng kiểu di truyền B có thể ưu việt hơn kiểu A trong môi trường Y. Khi có sự tương tác giữa di truyền và môi trường thì phương sai kiểu hình được tăng thêm hai lần hiệp phương sai của di truyền và môi trường.

$$V_P = V_A + V_D + V_I + 2COV_{G \times E} + V_E.$$

Tương tác di truyền-môi trường trở nên quan trọng hơn khi mà các cá thể của một quần thể được nuôi dưỡng trong điều kiện môi trường khác nhau. Phương sai về tương tác kiểu gen-môi trường cũng chứng minh cho sự nhạy cảm của kiểu gen đối với môi trường. Kiểu gen khác nhau thì nhạy cảm với môi trường khác nhau, môi trường không giống nhau thì sự nhạy cảm của kiểu gen cũng khác nhau.

Trong nghiên cứu di truyền tính trạng số lượng, người ta phân tích phương sai giá trị kiểu hình tính trạng ra các phương sai thành phần như trên và so sánh các thành phần đó với phương sai môi trường để tính các tham số di truyền: hệ số di truyền, tương quan di truyền, hệ số lặp lại. Phương pháp này được gọi là phân tích phương sai (analysis of variance).

5.3.4. Hệ số tương quan và hồi qui.

Để biểu thị mối quan hệ giữa các tính trạng số lượng, người ta sử dụng tương quan và hồi qui.

- Hệ số tương quan (coefficient of relation):

Hệ số tương quan r là tỷ số giữa hiệp phương sai và trung bình nhân các phương sai. Ví dụ, tương quan giữa hai tính trạng X (lượng sữa) với Y (tỷ lệ mỡ sữa bình quân).

$$r_{XY} = \frac{\sum (x_i - M_X)(y_i - M_Y)}{\sqrt{\sum (x_i - M_X)^2 \sum (y_i - M_Y)^2}}$$

Trong đó x_i là các giá trị, M_X là trung bình hoặc kỳ vọng các giá trị thuộc tính trạng X, y_i là các giá trị, M_Y là trung bình hoặc kỳ vọng các giá trị thuộc tính trạng Y.

- Hệ số hồi qui và phương trình hồi qui .

Hệ số hồi qui và phương trình hồi qui được sử dụng để định lượng hóa mối quan hệ giữa các tính trạng và dự đoán thay đổi khi các tính trạng có liên quan thay đổi.

Hệ số hồi qui (regretion):

$$b_{xy} = \frac{\sum (x_i - M_x)(y_i - M_y)}{\sqrt{\sum (x_i - M_x)^2}}$$

Phương trình hồi qui: có thể hồi qui tuyến tính và hồi qui không tuyến tính (phi tuyến).

Phương trình hồi qui tuyến tính bậc 1: $y = a + bx$

Trong đó: y là tính trạng (biến) phụ thuộc, x là tính trạng (biến) độc lập, a là hằng số (khi $x = 0$ thì $y = a$) hay là điểm cắt của đồ thị tại trục tung khi $x = 0$ và b là hệ số hồi qui.

Câu hỏi ôn tập chương 1

1. Hãy nêu những đặc điểm của cây đậu Hà Lan thuận lợi cho nghiên cứu di truyền?
2. Hãy cho biết lý do tại sao Mendel đã thành công trong nghiên cứu?
3. Hãy trình bày thí nghiệm và phát biểu các quy luật di truyền Mendel, giải thích quy luật theo quan điểm tế bào học?
4. Thế nào là lai phân tích? Ý nghĩa của lai phân tích trong nghiên cứu di truyền và thực tiễn chăn nuôi?
5. Trình bày tương tác giữa các alen trong một locus gen
6. Thế nào là hiện tượng tương tác bổ trợ của gen? Tương tác bổ trợ về hình dạng mỏ gà?
7. Thế nào là hiện tượng át chế? Tương tác át chế trội và tương tác át chế lặn?
8. Thế nào là gen đa alen? Trình bày một số trường hợp di truyền của gen đa alen.
9. Thế nào là tính trạng số lượng? Các đặc trưng của tính trạng số lượng? Hãy nêu và giải thích di truyền trung gian đối với tính trạng số lượng?
10. Hãy nêu thuyết đa gen trong di truyền tính trạng số lượng?

Chương 2

DI TRUYỀN HỌC TẾ BÀO

Những người đương thời với Mendel không hiểu các qui luật di truyền của Ông, một phần do chưa biết các cơ chế phân bào. Năm 1879, người ta đã tìm được cơ chế phân chia nguyên nhiễm và năm 1890, tìm ra cơ chế phân chia giảm nhiễm. Như vậy, đến cuối thế kỷ 19, các nhà sinh học mới tìm thấy mối tương quan giữa sự biểu hiện của nhiễm sắc thể trong phân bào với sự biểu hiện các nhân tố Mendel.

Với đối tượng nghiên cứu là ruồi dấm (*Drosophila melanogaster*), năm 1910 T.H. Morgan và các cộng sự đã đưa ra học thuyết di truyền nhiễm sắc thể, chứng minh các gen nằm trên nhiễm sắc thể, chúng liên kết với nhau để hình thành nên các đặc điểm, tính trạng của cơ thể. Sự ra đời của học thuyết di truyền nhiễm sắc thể đã đánh dấu thời kỳ phát triển thứ hai của di truyền học và là cơ sở xây dựng bản đồ gen động vật.

1. Cấu trúc cơ sở nhiễm sắc thể.

1.1. Khái niệm về nhiễm sắc thể.

Nhiễm sắc thể (chromosome) là thể vật chất di truyền, tồn tại trong nhân tế bào, bắt màu bằng các thuốc nhuộm kiềm tính, có dạng hình sợi hoặc hình que. Nhiễm sắc thể có số lượng, hình dạng, kích thước, cấu trúc đặc trưng cho từng loài. Nhiễm sắc thể có khả năng tái sinh, phân ly và tổ hợp trong quá trình phân chia tế bào và thụ tinh để tạo thành cá thể mới. Nhiễm sắc thể cũng có khả năng biến đổi về số lượng, cấu trúc, khi xảy ra những thay đổi làm xuất hiện các đặc điểm kiểu hình mới (các đột biến).

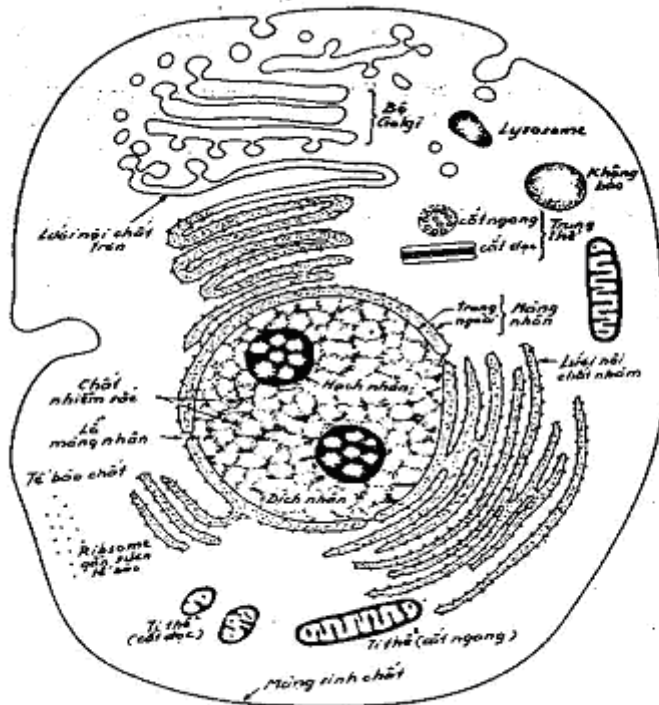
1.2 Cấu trúc cơ sở của nhiễm sắc thể.

Ở *virus*, nhiễm sắc thể chỉ là một phân tử DNA trần. Ở sinh vật có nhân, nhiễm sắc thể có cấu tạo phức tạp.

Ở các tế bào thực vật và động vật sau khi nhân đôi, mỗi nhiễm sắc thể có 2 cromatit (sợi nhiễm sắc), mỗi cromatit có 1 sợi DNA. Các cromatit này đóng xoắn cực đại vào giai đoạn trung kỳ (trong phân chia tế bào) nên chúng có hình dạng, kích thước đặc trưng.

Khi nhuộm màu, nhiễm sắc thể sẽ bắt màu ở các phần có sự khác nhau. Vùng bắt màu đậm gọi là vùng dị nhiễm sắc. Vùng này có chứa nhiều hạt nhiễm sắc (nút xoắn DNA), ở đây phân tử DNA đang ở trạng thái xoắn mạnh, ít hoạt động nên ít ảnh hưởng đến đặc điểm di truyền của cơ thể.

Vùng bắt màu nhạt gọi là vùng nhiễm sắc thể thực (đồng nhiễm sắc), vùng này có chứa ít hạt nhiễm sắc. Ở đây phân tử DNA đang hoạt



Hình 14. Tế bào động vật

động phiên mã, nên có ảnh hưởng lớn đến đặc điểm di truyền của cơ thể.

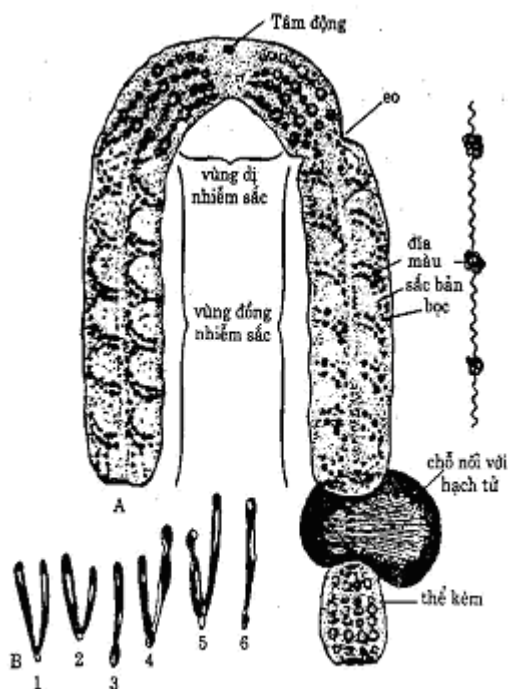
Trên nhiễm sắc thể có các eo, eo thứ nhất có chứa tâm động là nơi đính sợi nhiễm sắc lên sợi tơ vô sắc trong phân chia tế bào. Vị trí của tâm động quyết định hình thái của nhiễm sắc thể: tâm cân, tâm lệch, tâm mút. Tâm động có thể bị phân chia, khi tâm động phân chia, nhiễm sắc thể kép trở thành các sợi đơn. Eo thứ hai là nơi tổng hợp rRNA để hình thành ribosome là nơi tổng hợp protein.

Ở một số loài sinh vật vòng đời có trải qua giai đoạn ấu trùng có xuất hiện các nhiễm sắc thể với kích thước lớn hàng nghìn lần gọi là nhiễm sắc thể khổng lồ. Ở tế bào trứng của một số loài lưỡng cư có nhiễm sắc thể hình chổi đèn.

Chiều dài nhiễm sắc thể từ 0,2 - 50 μm , chiều ngang từ 0,2 - 20 μm .

Về cấu tạo vi thể: Nhiễm sắc thể được cấu tạo từ chất nhiễm sắc, bao gồm DNA và protein. Phân tử DNA quấn quanh khối cầu protein tạo nên nucleosome, là đơn vị cấu trúc cơ bản theo chiều dọc nhiễm sắc thể. Mỗi nucleosome gồm 8 phân tử histon chồng lên nhau tạo nên khối cầu, phía ngoài được bao bọc bởi $1\frac{3}{4}$ vòng xoắn DNA, đoạn phân tử này có khoảng 146 cặp nucleotit.

Các nucleosome nối lại với nhau bằng các đoạn histon trong chuỗi nucleosome tạo thành sợi cơ bản có chiều ngang 100A° , sợi cơ bản cuộn xoắn thứ cấp tạo nên nhiễm sắc thể có chiều ngang 300A° . Sợi nhiễm sắc thể tiếp tục đóng xoắn tạo nên một ống rỗng với bề ngang 2000A° , cuối cùng tạo thành sợi cromatit. Nhờ cấu trúc xoắn cuộn như vậy nên chiều dài của nhiễm sắc thể được rút ngắn 15 - 20 ngàn lần so với chiều dài phân tử DNA. Ví dụ, nhiễm sắc thể dài nhất của người khoảng 82 mm, sau khi xoắn cực đại chỉ còn khoảng 10 μm . Sự thu gọn cấu trúc không gian như vậy thuận lợi cho sự phân ly, tổ hợp các nhiễm sắc thể trong chu kỳ phân chia tế bào.



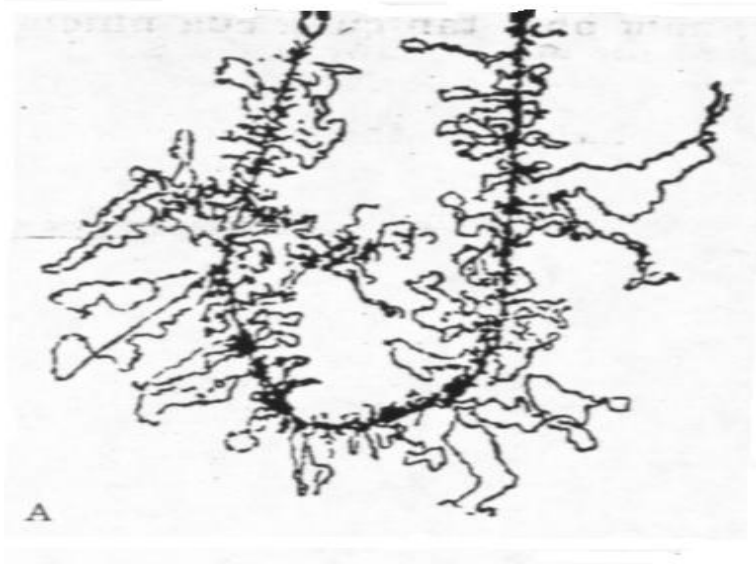
Hình 15. Hình thái và các dạng nhiễm sắc thể.

A/ Hình thái các bộ phận của nhiễm sắc thể

B/ Các dạng nhiễm sắc thể ở kỳ giữa

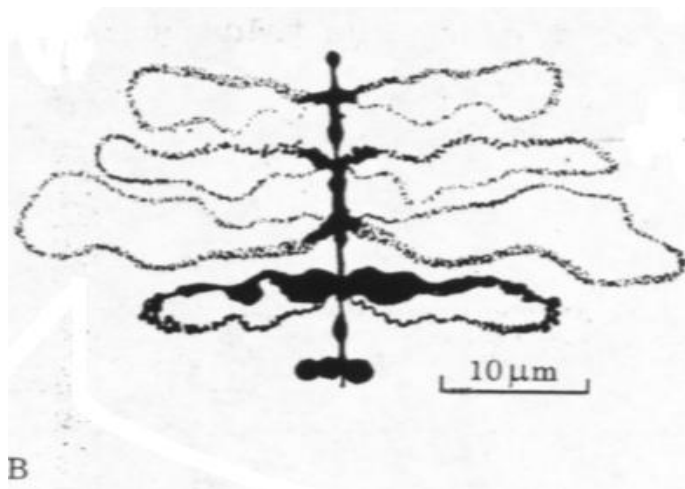
1. Tâm cân; 2. Tâm lệch; 3. Tâm mút;

4. Có eo thứ cấp; 5. Có thể kèm; 6. Tâm đầu

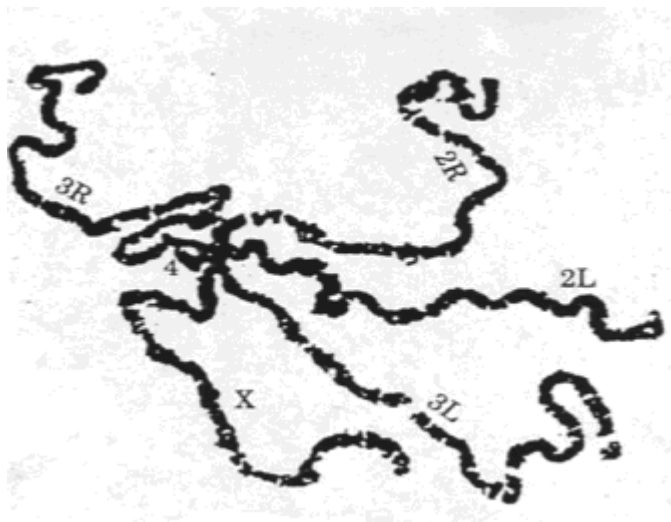


Hình 16. Nhiễm sắc thể kiểu bàn chải đờn

A. Trong noãn bào sơ cấp của cá cóc, thấy rõ trục chính từ đáy tỏa ra các nút.



B. Các chi tiết của ảnh A, trong đ ó thấy rõ các nút chính là những hạt nhiễm sắc thể. Phân tử DNA nằm trên nhiễm sắc thể. Các vùng đen cho thấy sự phân bố quá trình tổng hợp RNA trên các nút nhiễm sắc thể kiểu bàn chải đờn (theo J. Gal)



Hình 17. Nhiễm sắc thể khổng lồ tuyến nước bọt ấu trùng ruồi giấm.

R là vai trái, L là vai phải của từng nhiễm sắc thể.

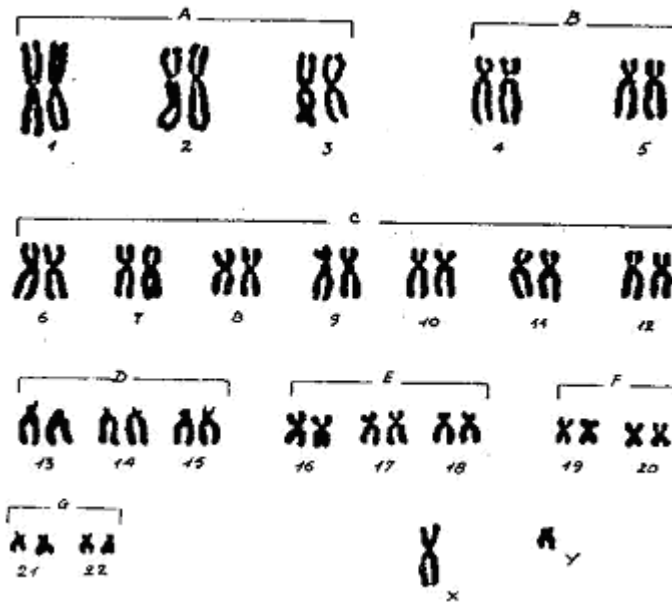
Các tế bào sinh dưỡng (soma), nhiễm sắc thể luôn đi với nhau theo từng cặp, giống nhau về hình thái, một có nguồn gốc từ bố và một có nguồn gốc từ mẹ, được gọi là cặp nhiễm sắc thể tương đồng. Bộ nhiễm sắc thể có cặp gọi là lưỡng bội ($2n$). Các tế bào sinh dục (tinh trùng, trứng), nhiễm sắc thể tồn tại thành từng chiếc đơn lẻ được gọi là tế bào đơn bội (n).

Ngoài ra, ở nhiều động vật có sự khác nhau giữa cá thể đực và cái ở cặp nhiễm sắc thể giới tính.

1.3 Kiểu nhân (caryotype) và nhiễm sắc thể đồ.

Tất cả các tế bào của một loài nói chung có số lượng nhiễm sắc thể cố định, đặc trưng cho loài đó. Ví dụ, ruồi dấm *Drosophila melanogaster* có 8 nhiễm sắc thể; tế bào ngô có 20 nhiễm sắc thể; tế bào người có 46 nhiễm sắc thể; đậu Hà lan có 14 nhiễm sắc thể; chó 78 nhiễm sắc thể; bò có 50 nhiễm sắc thể; lúa 24 nhiễm sắc thể...

Sự ổn định về hình thái của một nhiễm sắc thể và sự cố định về số lượng, nên sự mô tả hình thái của nhiễm sắc thể được gọi là kiểu nhân đặc trưng của mỗi loài. Kiểu nhân có thể được biểu hiện ở dạng nhiễm sắc thể đồ khi nhiễm sắc thể được xếp theo thứ tự từ giảm dần về chiều dài các cặp nhiễm sắc thể.



Hình 18. Kiểu nhân và nhiễm sắc thể đồ ở người

Sau này kỹ thuật nhuộm màu hoàn chỉnh hơn, làm rõ các vệt đặc trưng, hình thái của nhiễm sắc thể được xác định chi tiết hơn. Dựa vào nhiễm sắc thể đồ, nhuộm màu có thể nhìn thấy các đoạn tương đồng trên các nhiễm sắc thể cùng loại của các loài có quan hệ họ hàng gần nhau.

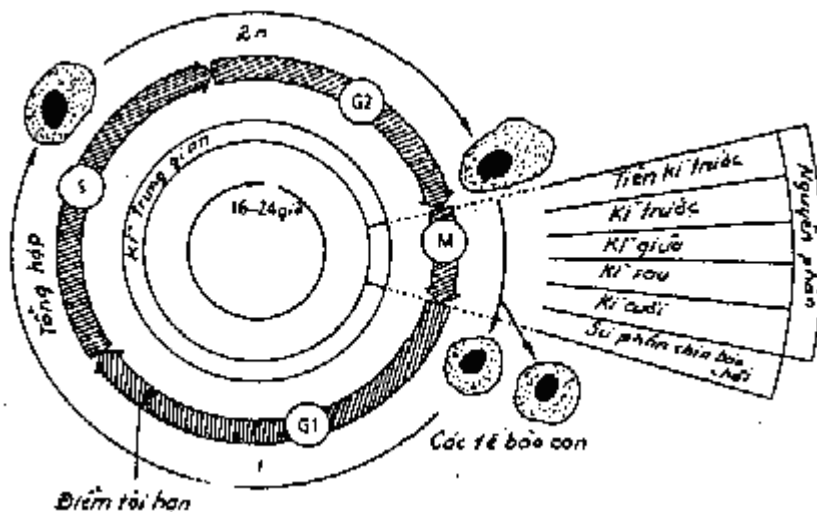
2. Đặc thù trong hoạt động của nhiễm sắc thể.

2.1. Chu kỳ tế bào (Cell cycle).

Chu kỳ tế bào là toàn bộ các sự kiện xảy ra từ lần phân bào này đến lần phân bào kế tiếp. Chu kỳ tế bào bao gồm 4 giai đoạn G_1 , S, G_2 và M.

- Giai đoạn G_1 (Gap 1) kéo dài từ sau khi tế bào phân chia lần trước đến bắt đầu sao chép DNA. Trong giai đoạn này, tế bào tích lũy vật chất nội bào, năng lượng để chuẩn bị tổng hợp DNA.

- Giai đoạn S (synthesis): Tổng hợp DNA, cuối giai đoạn này hàm lượng DNA tăng lên gấp đôi.



Hình 19. Sơ đồ về chu kỳ tế bào

- Giai đoạn G_2 (Gap 2): nối tiếp sau giai đoạn S đến khi tế bào bắt đầu phân chia. Trong giai đoạn này tế bào tiếp tục tích lũy vật chất, năng lượng để chuẩn bị phân chia tế bào.

- Giai đoạn M (Mitosis): phân chia tế bào.

2.2 Phân bào nguyên nhiễm (nguyên phân). (Mitosis)

Quá trình này xảy ra ở các tế bào soma và tế bào sinh dục trong giai đoạn chưa trưởng thành. Gồm 2 quá trình: Chia nhân và chia tế bào chất, trải qua 4 giai đoạn (4 kỳ):

2.2.1 Tiền kỳ (prophase).

Các trung thể chuyển động về hai cực của nhân, các nhiễm sắc thể co ngắn lại thành sợi. Mỗi nhiễm sắc thể gồm 2 sợi cromatit gắn với nhau nhờ tâm động. Các sợi tơ vô sắc được hình thành, nối 2 cực của tế bào. Màng nhân và nhân con biến mất. Các tế bào khác với các tế bào động vật là không có trung thể và thoi vô sắc.

2.2.2 Trung kỳ (metaphase)

Tâm động của mỗi nhiễm sắc thể kép gắn với thoi vô sắc ở mặt phẳng xích đạo của tế bào. Nhiễm sắc thể co ngắn đến mức tối đa, trở thành hình que, có thể quan sát rất rõ dưới kính hiển vi, thấy rõ hình thái và đếm được số lượng nhiễm sắc thể.

2.2.3 Hậu kỳ (anaphase).

Có hiện tượng đẩy nhau giữa hai sợi đơn trong nhiễm sắc thể kép và co rút giữa hai cực tế bào mà các sợi đơn tách nhau ra, mỗi sợi đi về một cực của tế bào.

2.2.4 Mạt kỳ (telophase).

Phân chia tế bào chất, ở giữa mặt phẳng xích đạo tế bào hình thành nếp nhăn phân cách và ngày càng ăn sâu vào trong, đến khi chia tế bào thành hai nửa, mỗi nửa là một tế bào con. Ở thực vật, phiến tế bào (vách ngăn) hình thành ở trung tâm tế bào chất và lan rộng dần đến khi cắt tế bào thành hai.

Kết quả, từ một tế bào mẹ ban đầu, qua 4 kỳ phân chia tạo ra 2 tế bào con có số lượng nhiễm sắc thể bằng nhau và bằng tế bào ban đầu ($2n$). Cơ chế này đảm bảo số lượng nhiễm sắc thể hoặc vật chất di truyền không đổi qua các thế hệ tế bào (các tế bào trong cơ thể sinh vật luôn bằng nhau và không đổi).

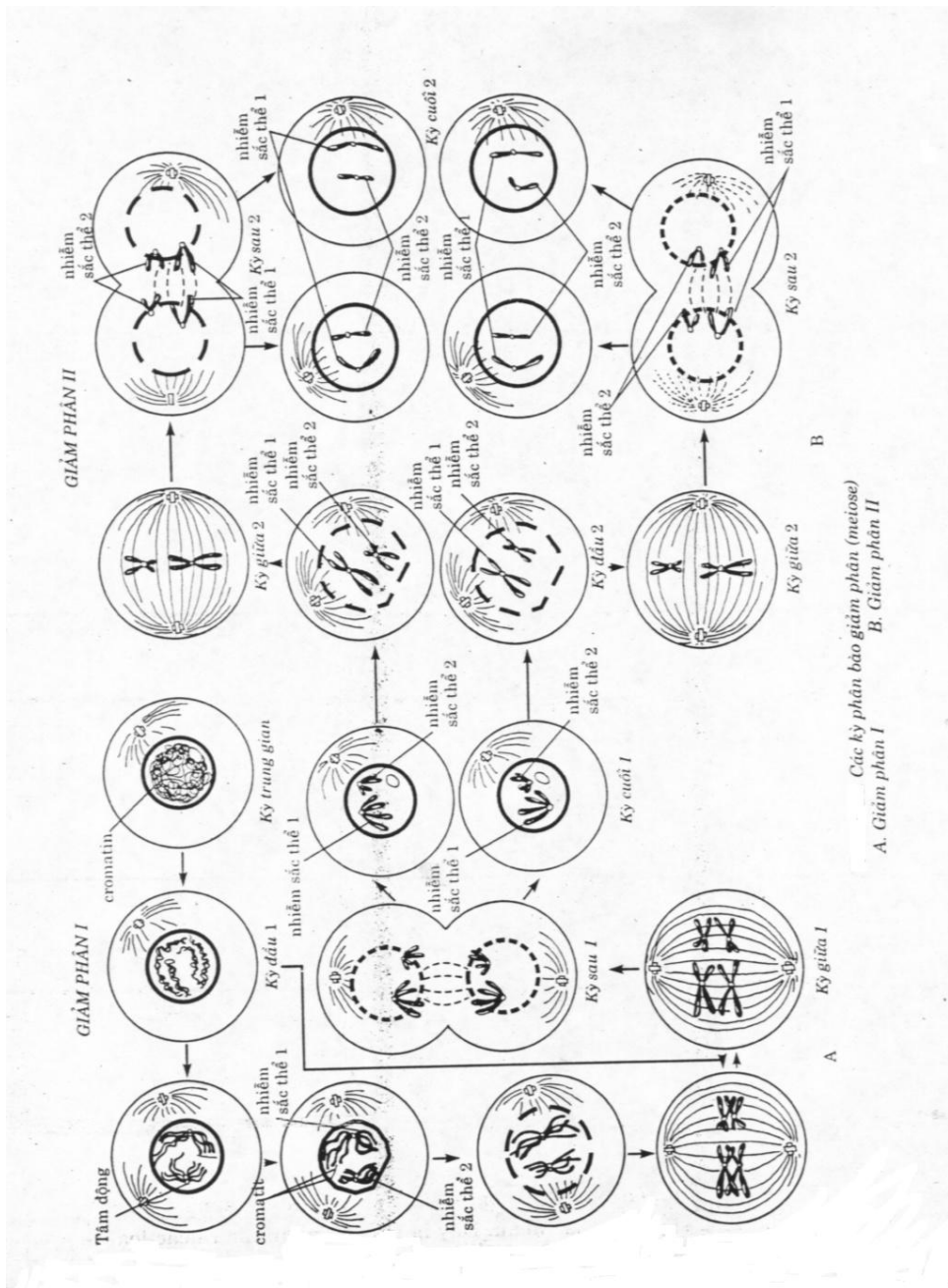
2.3 Phân bào giảm nhiễm (giảm phân) (Meiosis).

Là quá trình phân bào chuyên biệt, trong đó số lượng nhiễm sắc thể giảm đi một nửa (n). Quá trình phân chia này chỉ xảy ra ở tế bào sinh dục trong giai đoạn chín (trưởng thành) để phát sinh giao tử (tinh trùng, trứng).

Phân bào giảm nhiễm gồm 2 lần phân chia nối tiếp nhau, gọi là giảm nhiễm lần 1 và giảm nhiễm lần 2. Lần phân chia 1 là phân chia giảm nhiễm và lần phân chia 2 là phân chia đều hay phân chia nguyên nhiễm.

2.3.1 Lần phân chia 1.

- Tiền kỳ 1 (prophase 1). gồm 5 pha nhỏ.
 - + Leptoten: nhiễm sắc co ngắn lại tạo thành từng sợi mảnh.
 - + Zigoten: Các nhiễm sắc thể đồng nguồn tiến sát lại gần nhau, dính với nhau ở tại tâm động, hình thành thể lưỡng trị (bivalent)
 - + Pachiten: Nhiễm sắc thể tiếp tục co ngắn, dày to ra, biểu hiện rõ cấu trúc sợi kép. Mỗi cặp tương đồng gồm 4 sợi cromatit tạo thành tứ tử (tetran). Ở mỗi cặp nhiễm sắc thể kép có xảy ra hiện tượng tiếp hợp và bắt chéo giữa hai cromatit không chị em (không cùng nguồn gốc).



Các kỳ phân bào giảm phân (meiose)
A. Giảm phân I
B. Giảm phân II

+ Diptoten: Có hiện tượng đẩy nhau giữa các sợi cromatit làm căng các hình chéo, có hiện tượng đứt và nối lại, các sợi tách nhau ra, nhiễm sắc thể tiếp tục co ngắn.

+ Diakinez: Nhiễm sắc thể co ngắn đến mức tối đa, xếp dần lại trên mặt phẳng xích đạo tế bào, màng nhân và nhân con biến mất.

- Trung kỳ 1 (metaphase 1).

Các tứ tử tập trung ở mặt phẳng xích đạo tế bào, đính lên sợi tơ vô sắc tại tâm động.

- Hậu kỳ 1 (anaphase 1).

Tứ tử tách đôi, mỗi sợi kép đi về một cực của tế bào.

- Mạt kỳ 1 (telophase 1).

Hai nhân mới được hình thành, mỗi nhân với bộ nhiễm sắc thể đơn bội kép (n). Sau mạt kỳ là gian kỳ cực ngắn (interkinesis). Trong kỳ này không xảy ra sao chép vật chất di truyền.

2.3.2 Lần phân chia 2.

- Tiền kỳ 2 (prophase 2). Ở mỗi nửa tế bào hình thành sợi tơ vô sắc và thoi bất nhiễm mới, các nhiễm sắc thể kép tiếp tục co ngắn và tập trung ở mặt phẳng xích đạo mới.

- Trung kỳ 2 (metaphase 2).

Các sợi kép đính lên sợi tơ vô sắc tại tâm động.

- Hậu kỳ 2 (anaphase 2).

Các tâm động phân chia, các sợi đơn cromatit tách nhau ra, mỗi sợi đi về 1 cực của tế bào.

- Mạt kỳ 2 (telophase 2).

Phân chia tế bào chất, hình thành 4 tế bào đơn bội, mỗi tế bào chứa các nhiễm sắc thể đơn của các cặp.

Như vậy, giảm nhiễm lần 1 tạo ra 2 tế bào đơn bội chứa các nhiễm sắc thể kép (có 2 cromatit). Phân chia lần 2, mỗi tế bào đơn bội sợi kép lại chia đôi để hình thành 4 tế bào đơn bội sợi đơn.

Kết quả, từ một tế bào lưỡng bội ($2n$) ban đầu qua 2 lần phân chia cho ra 4 tế bào đơn bội (n), số lượng nhiễm sắc thể giảm đi một nửa so với tế bào lưỡng bội ban đầu. Đây là cơ chế quan trọng để hình thành các tế

bào sinh dục đực, cái có số lượng nhiễm sắc thể giảm đi một nửa để khi thụ tinh, tái tạo lại bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội ($2n$) ở đời con. Điều này làm cho số lượng nhiễm sắc thể hay vật chất di truyền không đổi qua các thế hệ sinh vật.

2.4 *Quá trình hình thành giao tử ở động vật bậc cao.*

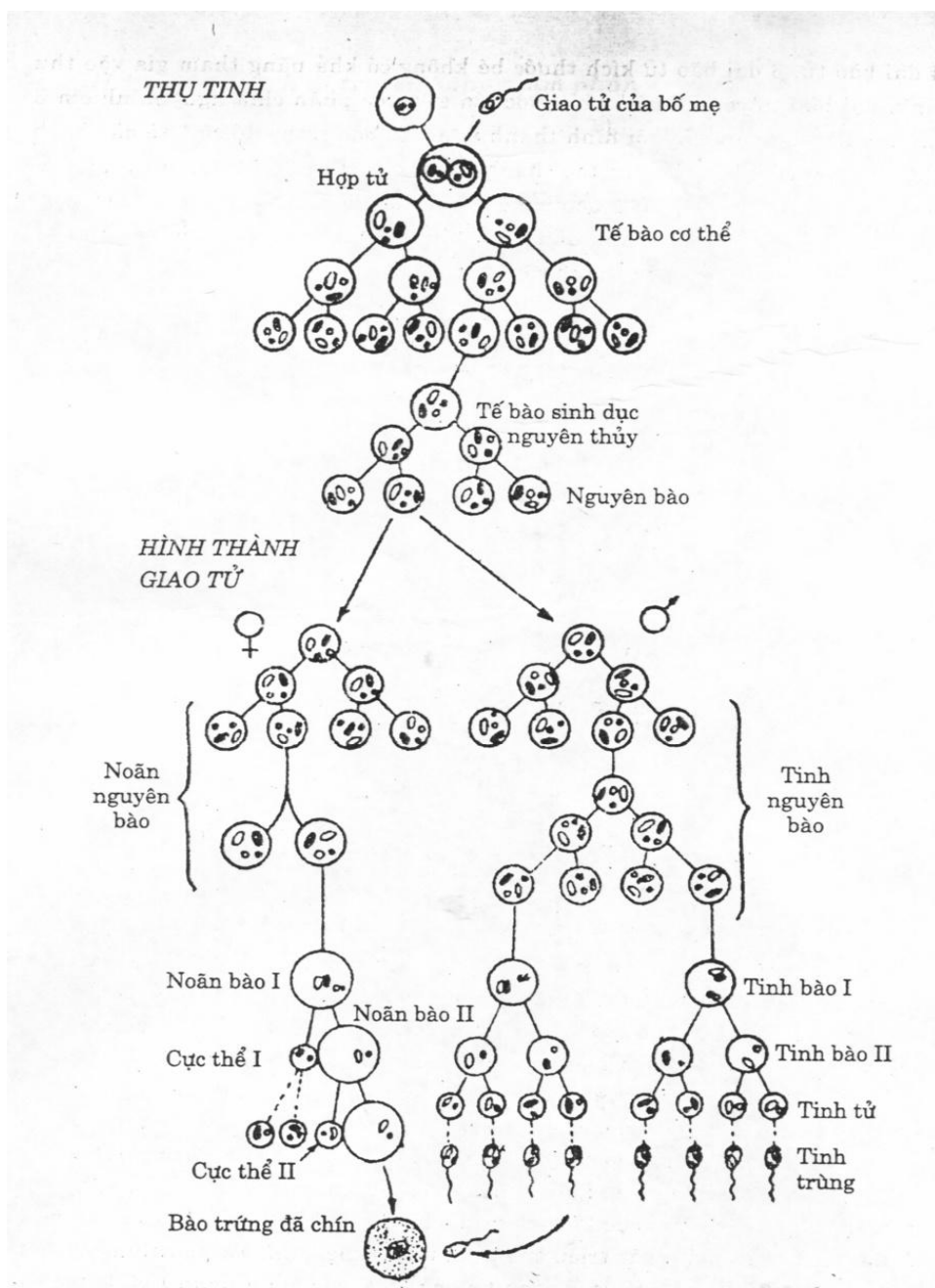
Ở động vật thì giai đoạn lưỡng bội chiếm ưu thế, giai đoạn đơn bội rất ngắn. Ở các cơ thể trưởng thành bộ nhiễm sắc thể $2n$, có một nhóm tế bào được tách ra làm nhiệm vụ sinh sản được gọi là tế bào sinh sản nguyên thủy. Các tế bào này nguyên phân liên tiếp ở vùng sinh sản tạo nên hàng loạt các tế bào con, hình thành nên mô tế bào sinh dục đực hoặc mô tế bào sinh dục cái, mỗi tế bào đều chứa bộ nhiễm sắc thể $2n$. Các tế bào này tiếp nhận nguyên liệu môi trường tạo nên các tế bào có kích thước lớn, lượng tế bào chất nhiều được gọi là noãn nguyên bào hoặc tinh nguyên bào.

2.4.1. Hình thành giao tử đực (tinh trùng).

Các tinh nguyên bào tiếp tục tích lũy năng lượng để thành tinh bào cấp I và bước vào giai đoạn chín mà chủ yếu là qua cơ chế giảm phân. Từ một tinh bào cấp I qua phân chia giảm nhiễm lần 1 hình thành nên 2 tinh bào cấp II và kết thúc phân chia giảm nhiễm lần hai cho ra 4 tinh tử, sau đó hình thành tinh trùng. Tinh tử có hình cầu, sau một thời gian thay đổi về hình dạng trở thành tinh trùng có đầu, cổ và đuôi. Với hình dạng như vậy, tinh trùng có thể vận chuyển được trong môi trường tử cung của con cái và tiến hành thụ tinh.

2.4.2. Hình thành giao tử cái (tế bào trứng).

Các noãn nguyên bào tiếp tục tích lũy năng lượng để trở thành noãn bào cấp I và bước vào giai đoạn phân chia giảm nhiễm. Kết thúc lần phân chia 1 cho ra noãn bào cấp II và 1 thể cực bé (chỉ có nhân). Phân chia giảm nhiễm lần 2 cho ra 1 tế bào trứng và 2 thể cực. Như vậy, qua 2 lần phân từ một noãn nguyên bào ($2n$) cho ra 1 tế bào trứng (n) có kích thước lớn và 3 thể cực bé (n). Thể cực chỉ tồn tại một thời gian ngắn, sau đó tiêu biến đi (vì không có tế bào chất). Cuối cùng còn lại tế bào trứng có khả năng thụ tinh.



Hình 20. Quá trình hình thành trứng và tinh trùng ở động vật có vú

3. Nghiên cứu hình thái nhiễm sắc thể động vật.

Di truyền học tế bào là một lĩnh vực nghiên cứu trong đó các đặc điểm di truyền và đặc điểm phân tử của gen được nghiên cứu song song với đặc điểm tế bào học của nhiễm sắc thể và của DNA nhiễm sắc thể, qua sử dụng kính hiển vi.

Hình thái của nhiễm sắc thể được xác định qua các tiêu bản phân chia tế bào vào giai đoạn trung kỳ. Chiều dài của nhiễm sắc thể, chiều dài tương đối của cánh (vai) để xác định vị trí tâm động cũng như các đặc điểm chung của gen, cấu tạo nhân con, làm thành các đặc thù của nhiễm sắc thể.

Sự phát triển của phương pháp nhuộm phân hóa (hiện băng) làm hiện lên các băng chính và băng xen trên nhiễm sắc thể tế bào soma, cho ta khả năng xác định chính xác từng nhiễm sắc thể của cá thể.

4. Morgan và thuyết di truyền nhiễm sắc thể.

4.1 Sơ lược tiểu sử và công trình nghiên cứu của Morgan.

Thomas Hunt Morgan là một nhà phôi thai học ở Trường Đại học Colombia (Mỹ). Ông đã chọn đối tượng nghiên cứu là ruồi dấm (*Drosophila melanogaster*). .

Cùng nghiên cứu với Morgan có 3 nhà di truyền học nổi tiếng là C. Bridges, A.H Sturtevant và G. Muller. Nhóm nghiên cứu này đã chứng minh các nhân tố di truyền Mendel nằm trên nhiễm sắc thể.

Đặc điểm của ruồi dấm: là một loại ruồi nhỏ có thân xám, mắt đỏ, thường bu vào trái cây chín.

- Có chu kỳ sống ngắn: Toàn bộ quá trình từ trứng nở ra, rồi nhộng và ruồi trưởng thành (ở 25°C) chỉ có 10 ngày, một cặp ruồi trung bình đẻ ra khoảng 100 ruồi con.

- Các tính trạng biểu hiện rõ ràng, dễ gây đột biến, cho đến nay đã nhận được khoảng 400 đột biến khác nhau.

Học thuyết di truyền nhiễm sắc thể xác nhận sự đúng đắn học thuyết về gen của Mendel, cho thấy các gen có cơ sở vật chất, gắn chặt với cấu trúc tế bào. Di truyền Mendel cùng với di truyền Morgan gắn chặt với nhau và trở thành học thuyết di truyền cổ điển, di truyền Mendel - Morgan. Ông nhận được giải thưởng Nobel vào năm 1934



Hình 21. T.H. Morgan (1866-1945)

Ruồi dấm có các đặc điểm thuận lợi cho nghiên cứu di truyền.

- Dễ nuôi trong môi trường nhân tạo, ít choán chỗ trong phòng thí nghiệm và dễ lai giữa chúng với nhau.

- Bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội, có 8 nhiễm sắc thể, ngoài ra còn có nhiễm sắc thể không lồ, dễ quan sát tế bào.

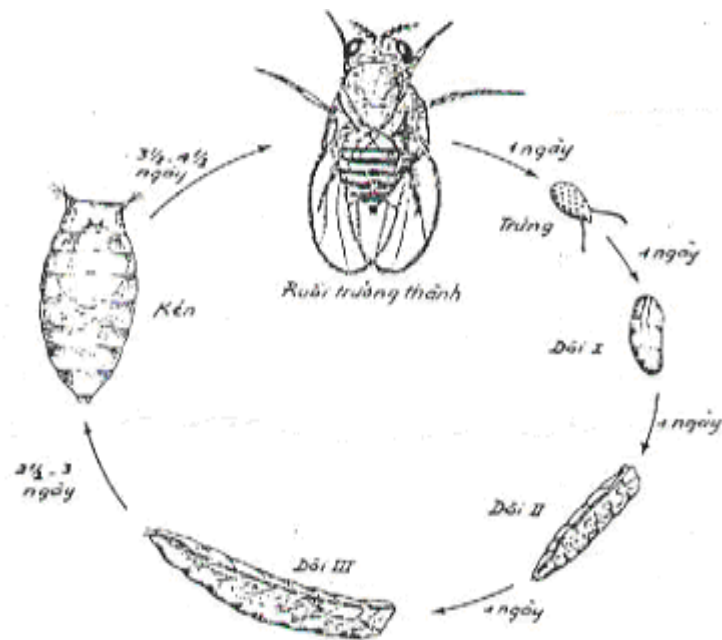
4. 2 Sự di truyền liên kết.

Khi xét mối quan hệ giữa số lượng nhiễm sắc thể và số lượng gen, người ta thấy có sự khác nhau. Số lượng nhiễm sắc thể thì ít nhưng số lượng gen là rất lớn, do đó trên 1 nhiễm sắc thể phải có nhiều gen. Trong quá trình phân chia tế bào các nhiễm sắc thể đi về các tế bào con hoặc các giao tử, các gen cùng nằm trên 1 nhiễm sắc thể sẽ đi cùng nhau, do đó chúng di truyền đồng thời với nhau hay liên kết. Sự di truyền đồng thời của các gen cùng nằm trên một nhiễm sắc thể được gọi là di truyền liên kết hay còn gọi là liên kết gen. Khi có di truyền liên kết thì sự phân ly của nhiều cặp gen giống như phân ly của một cặp gen.

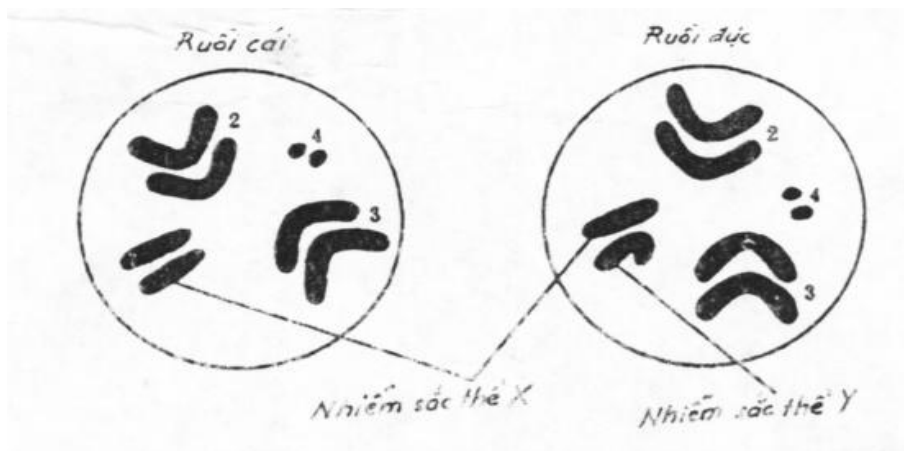
4.2.1 Liên kết hoàn của gen.

Thí nghiệm của Morgan, cho lai giữa ruồi dấm thân xám, cánh dài với ruồi thân đen, cánh ngắn, nhận được F_1 thân xám, cánh dài.

Dem lai phân tích ruồi đực F_1 với ruồi cái lặn thuần nhận được đời con có 2 dạng kiểu hình giống bố mẹ là thân xám, cánh dài và thân đen, cánh ngắn với tỷ lệ bằng nhau (1:1). Như vậy, kết quả lai phân tích 2 cặp tính trạng trong trường hợp này giống với lai phân tích 1 cặp tính trạng trong thí nghiệm của Mendel.



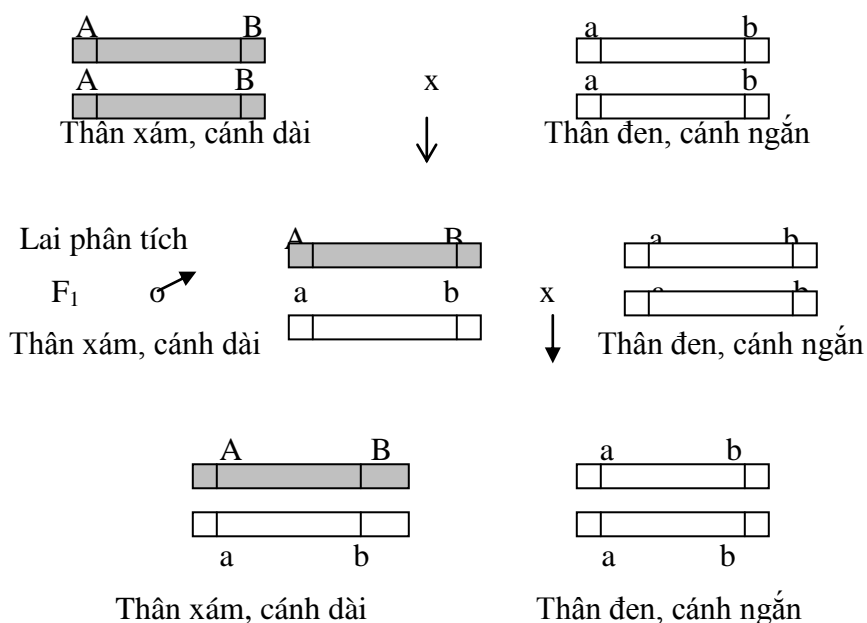
Hình 22. Vòng đời và bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội của ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*)



Hình 23. Bộ nhiễm sắc thể của ruồi giấm

Sở dĩ như vậy, theo Morgan là các gen qui định các tính trạng màu sắc thân và hình dạng cánh của ruồi dấm cùng nằm trên 1 nhiễm sắc thể, chúng liên kết với nhau và cùng đi về 1 giao tử trong quá trình giảm phân. Do vậy F_1 chỉ cho 2 loại giao tử, chứ không phải 4 loại như trong thí

nghiệm Mendel. Hai loại giao tử này kết hợp với 1 loại giao tử ở con cái lặn thuần cho ra 2 dạng kiểu hình ở đời con. Vì xác suất hình thành 2 loại giao tử ở F_1 là như nhau nên tỷ lệ hai dạng kiểu hình ở đời con cũng như nhau. Hiện tượng này Morgan gọi là liên kết hoàn toàn của gen.

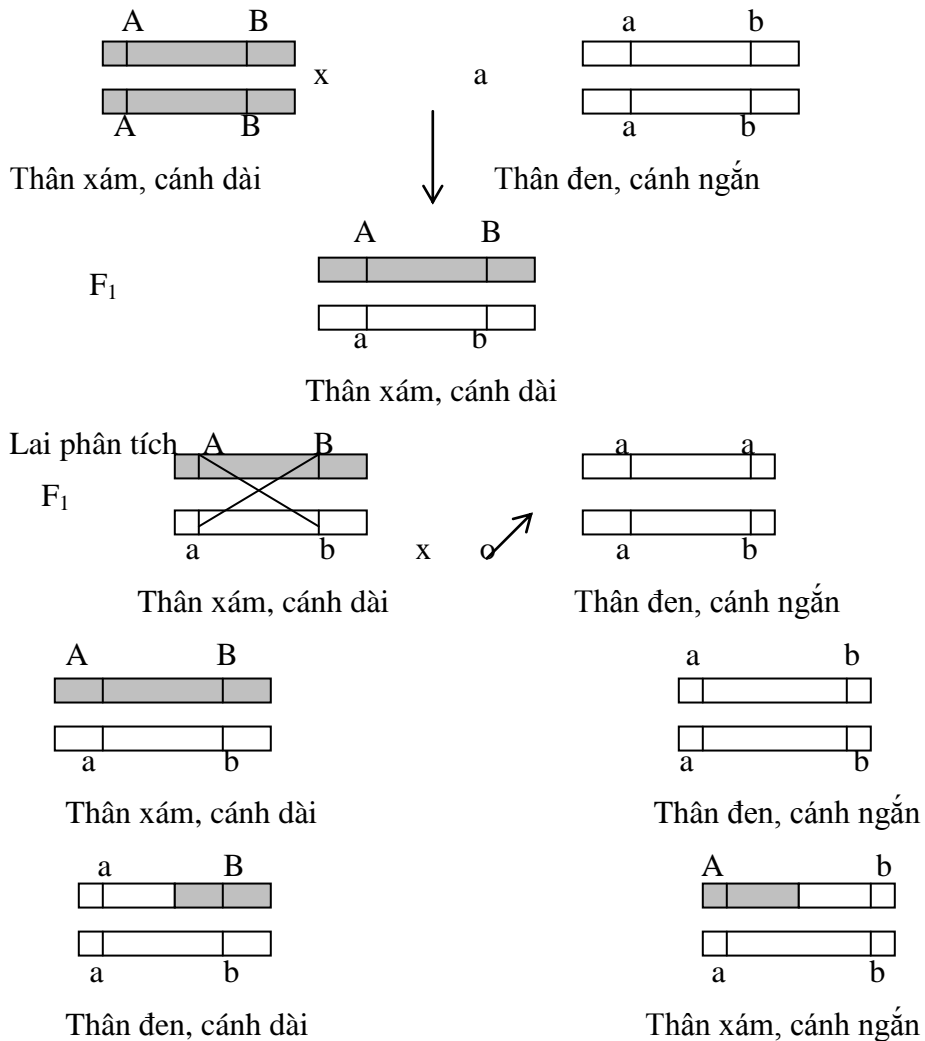


4. 2.2 Liên kết không hoàn toàn.

Khi cho lai ngược lại, ruồi cái F_1 với ruồi đực lặn thuần, nhận được đời con có 4 dạng kiểu hình, trong đó có 2 dạng giống bố mẹ (thân xám, cánh dài và thân đen, cánh ngắn) chiếm tỷ lệ nhiều hơn còn 2 dạng kiểu hình khác bố mẹ (thân đen, cánh dài và thân xám, cánh ngắn) chiếm tỷ lệ ít hơn.

Sở dĩ như vậy là trong quá trình giảm phân để hình thành giao tử ở F_1 đã xảy ra trao đổi giữa các đoạn nhiễm sắc thể tương đồng không chị em, làm xuất hiện các giao tử có trao đổi. Khi các giao tử này kết hợp với giao tử của cá thể lặn thuần làm xuất hiện các cá thể có kiểu hình khác bố mẹ. Vì xác suất xảy ra trao đổi thấp hơn không trao đổi, do đó tỷ lệ các thể có kiểu hình khác bố mẹ thấp hơn tỷ lệ cá thể có kiểu hình giống bố mẹ. Hiện tượng này Morgan gọi là liên kết không hoàn toàn của gen.

Kết quả nhận được: thân xám, cánh dài và thân đen, cánh ngắn (loại có kiểu hình cũ) chiếm tỷ lệ nhiều hơn còn thân xám, cánh ngắn và thân đen, cánh dài (loại có kiểu hình mới) chiếm tỷ lệ ít hơn



4.3 Hiện tượng tái tổ hợp và tần số tái tổ hợp.

Khi các gen liên kết không hoàn toàn, xuất hiện các giao tử dạng mới không giống với bố mẹ, tức là đã có sự sắp xếp lại các gen trên nhiễm sắc thể. Hiện tượng này được gọi là tái tổ hợp và các dạng mới xuất hiện được gọi là dạng tái tổ hợp.

Để đánh giá mức độ liên kết, nhóm Morgan đã đưa ra khái niệm tần số tái tổ hợp. Tần số tái tổ hợp là phần trăm cá thể tái tổ hợp so với tổng số cá thể thu được trong thí nghiệm.

Ví dụ, trong thí nghiệm lai phân tích ở ruồi dấm, thu được 1000 cá thể, trong đó có 170 dạng tái tổ hợp, tức là có 17% cá thể dạng tái tổ hợp.

Tần số này được tính theo công thức:

$$\% \text{ tần số tái tổ hợp} = \frac{\text{Số cá thể tái tổ hợp}}{\text{Tổng số cá thể thu được}} \times 100$$

Các tác giả cho rằng có thể dùng tần số tái tổ hợp để đo khoảng cách giữa các gen trên nhiễm sắc thể và là cơ sở xây dựng bản đồ di truyền hay bản đồ nhiễm sắc thể, bản đồ gen. Theo Morgan và cộng sự thì cứ 1% tần số tái tổ hợp tương ứng với 1 đơn vị Morgan, được ký hiệu là cM (*centimorgan*). Như vậy, ở ví dụ trên khoảng cách giữa 2 gen là 17 cM.

4.4 Nhiễm và trùng hợp.

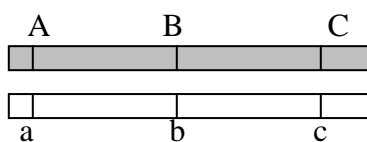
Thông thường xảy ra trao đổi chéo tại 1 điểm sẽ làm giảm trao đổi chéo tại điểm thứ 2 gần kề nó, đó là hiện tượng nhiễm (cản pha). Để đánh giá hiện tượng này, người ta đưa khái niệm về sự trùng hợp (phù hợp).

$$\% \text{ Hệ số trùng hợp} = \frac{(\%) \text{ trao đổi chéo đôi (tại 2 điểm đồng thời) thực tế}}{(\%) \text{ trao đổi chéo đôi lý thuyết}} \times 100$$

$$\% \text{ trao đổi chéo đôi thực tế} = \frac{\text{Số cá thể có trao đổi chéo đôi}}{\text{Tổng số cá thể thu được trong thí nghiệm}} \times 100$$

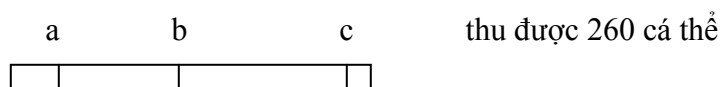
$\% \text{ trao đổi chéo đôi lý thuyết} = (\%) \text{ trao đổi chéo tại điểm 1} \times (\%) \text{ trao đổi chéo tại điểm 2.}$

Xét 3 gene trên nhiễm sắc thể.

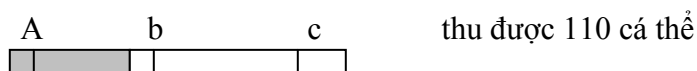


Khi phát sinh giao tử cho ra các dạng giao tử sau:

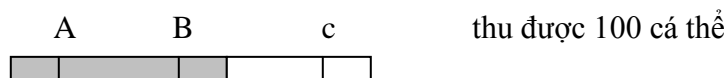
1. Giao tử không trao đổi:



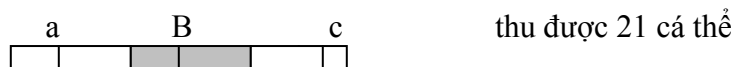
2. Giao tử có trao đổi tại điểm 1 (A-B).



3. Giao tử có trao đổi tại điểm 2 (B-C)

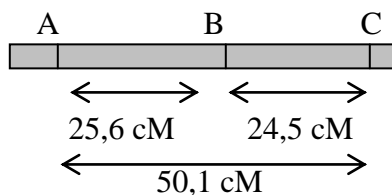


4. Giao tử có trao đổi đồng thời tại 2 điểm (đôi) (A-B-C)



$$\text{Tần số trao đổi tại điểm 2 (B-C)} = \frac{245}{1000} = 0,245 \text{ (24,5\%)} = 24,5\text{cM}$$

Bản đồ nhiễm sắc thể đối với 3 gene trên là



$$\text{Hệ số trùng hợp (\%)} = \frac{0,041}{0,256 \times 0,245} = 65,37 \%$$

Hệ số nhiều (%) = 1 - Hệ số trùng hợp

Từ ví dụ trên chúng ta thấy trao đổi chéo đôi chỉ xảy ra 65,37% và nhiều 34,63%.

5. Đột biến nhiễm sắc thể.

5.1 Đột biến về cấu trúc nhiễm sắc thể.

Là những biến đổi xảy ra trong cấu trúc của nhiễm sắc thể làm thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể ở các mức độ khác nhau.

Đột biến có thể xảy ra trong giới hạn 1 nhiễm sắc thể cũng có thể xảy ra giữa các nhiễm sắc thể tương đồng hoặc không tương đồng. Khi xảy ra đột biến về cấu trúc nhiễm sắc thể làm xuất hiện các dạng kiểu hình mới hoặc có thể gây chết.

5.1.1 Đột biến mất đoạn (Deletion).

Là hiện tượng nhiễm sắc thể bị đứt 1 đoạn có mang thông tin di truyền. Đoạn đứt không có tâm động nên khi phân bào không dính vào thoi vô sắc nên bị tiêu biến đi. Kết quả một tế bào nhận được 1 nhiễm sắc thể bị mất đoạn.

Mất đoạn nhiễm sắc thể dẫn đến làm mất cân bằng gen, ảnh hưởng nghiêm trọng đến khả năng sống của cơ thể. Nếu mất đoạn lớn sẽ làm cho cơ thể không sống được còn nếu mất đoạn ít, cơ thể có thể sống được nhưng thường bị biến dạng hoặc sinh bệnh tật.

5.1.2 Đột biến lặp đoạn (Duplication).

Là hiện tượng một đoạn nhiễm sắc thể được lặp lại một hoặc một số lần trên nhiễm sắc thể. Nói chung sự lặp đoạn không gây hậu quả nặng nề như bị mất đoạn. Thậm chí một số trường hợp tăng đoạn có lợi cho tiến hóa và tạo vật liệu di truyền mới.

Nhờ lặp đoạn có thể nghiên cứu ảnh hưởng của số lượng và vị trí khác mức bình thường của một đoạn nhiễm sắc thể hay gen. Kiểu hình của cá thể lặp đoạn có thể trội, có thể lặn hay trung gian hoặc có tác dụng tích lũy.

Hiện tượng lặp đoạn còn gặp ở nấm men, thú và ở đại mạch. Ở đại mạch có đột biến tăng đoạn làm tăng hoạt tính men amilaza có ý nghĩa

trong công nghiệp sản xuất bia. Lặp đoạn còn có ý nghĩa quan trọng trong đối với tiến hóa của bộ gen, tạo nguyên liệu cho chọn lọc tự nhiên.

Trường hợp điển hình về đột biến trội mắt thối Bar (B) nằm trên nhiễm sắc thể X của ruồi dấm. Trong trường hợp tăng đoạn, dị hợp tử +/B thì mắt bé hơn mắt bình thường một ít, hẹp cạnh nên có dạng kéo dài. Ruồi đồng hợp BB có mắt bé hơn. Nếu lặp đoạn đôi (tăng hơn bình thường 2 đoạn) sẽ là đột biến Bar kép thì sẽ có mắt nhỏ hơn nữa, gọi là “thối kép”. Số đoạn lặp lại có thể đến 7 có mắt nhỏ nhất. Gen mắt thối B có tác dụng gia tăng theo chiều giảm kích thước mắt, số đoạn lặp càng nhiều thì mắt càng bé đi. Có trường hợp khác, lặp đoạn có tác dụng theo chiều ngược lại, số đoạn càng tăng thì kiểu hình càng trở về bình thường hơn.

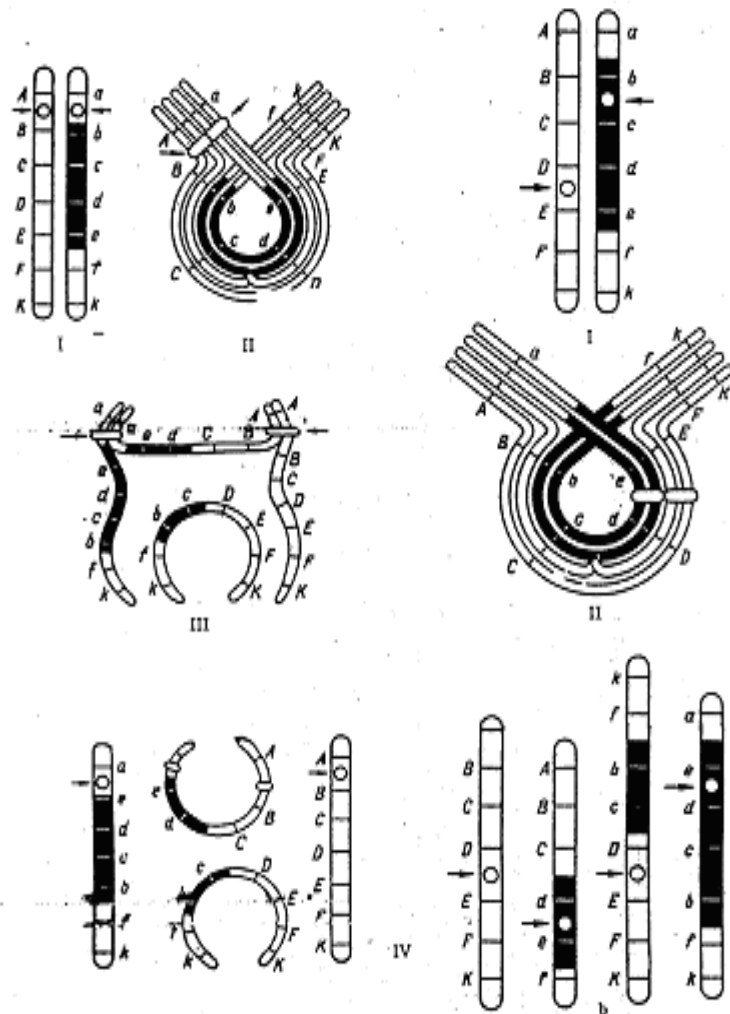
5.1.3 Đột biến đảo đoạn (Invertion)

Là hiện tượng một đoạn nhiễm sắc thể bị đứt, quay một góc 180° sau đó nối lại như cũ. Kết quả làm thay đổi vị trí sắp xếp của gen trên nhiễm sắc thể ở đoạn bị đảo. Có thể đảo đoạn trong tâm, đảo đoạn ngoài tâm

Đảo đoạn trong tâm, đoạn đảo có mang tâm động còn đảo đoạn ngoài tâm là đoạn đảo không chứa tâm động.

Ở cơ thể dị hợp, đoạn đảo trên nhiễm sắc thể người ta thấy hình thành nút do nhiễm sắc thể không có đảo đoạn hình thành vòng tròn thuận, còn nhiễm sắc thể có đảo đoạn hình thành vòng ngược, nhờ vậy mà các locus tiếp hợp được với nhau.

Đảo đoạn không ngăn cản trao đổi chéo xảy ra ở đoạn bị đảo, nhưng giao tử mang đoạn bị đảo đã qua trao đổi chéo thường không có khả năng sống. Nhiều thực nghiệm về đảo đoạn ở trạng thái dị hợp trong giảm phân đã xác nhận đảo đoạn là nhân tố cách ly và thúc đẩy tiến hóa trong loài.



- Trao đổi chéo ở một thể dị hợp có đảo đoạn ngoài tâm động (a) và gồm tâm động (b).
- I. Một nhiễm sắc thể bình thường và một nhiễm sắc thể có đảo đoạn.
 - II. Tiếp hợp các cặp nhiễm sắc thể tương đồng khi một chiếc có đảo đoạn.
 - III. Hình thành nhiễm sắc thể có 2 tâm động và đoạn không có tâm động.
 - IV. Nhiễm sắc thể tạo thành qua đảo đoạn và trao đổi chéo.

Hình 24. Đảo đoạn nhiễm sắc thể

5.1.4 Đột biến chuyển đoạn (Translocation).

Chuyển đoạn là kiểu cấu trúc lại nhiễm sắc thể mà đoạn bị đứt ra chuyển đến vị trí mới trong cùng nhiễm sắc thể hoặc chuyển sang nhiễm sắc thể khác hoặc trao đổi đoạn giữa các nhiễm sắc thể tương đồng và không tương đồng.

Chuyển đoạn được chia thành nhiều kiểu: trong phạm vi 1 nhiễm sắc thể gồm chuyển đoạn cùng cánh và khác cánh, giữa các nhiễm sắc thể không tương đồng chia ra: chuyển đoạn tương hỗ và không tương hỗ. Chuyển đoạn không tương hỗ được chia ra chuyển đoạn cuối và chuyển đoạn trong.

Chuyển đoạn tương hỗ là hiện tượng các nhiễm sắc thể không tương đồng trao đổi với nhau các đoạn bị đứt. Được chia thành chuyển đoạn đối xứng, khi hình thành hai nhiễm sắc thể, mỗi nhiễm sắc thể có 1 tâm động, còn chuyển đoạn không đối xứng, khi chuyển đoạn xảy ra 1 nhiễm sắc thể có 2 tâm động và 1 nhiễm sắc thể không mang tâm động. Hậu quả của chuyển đoạn tương hỗ tùy thuộc vào số lượng và tầm quan trọng của các locus ở đoạn chuyển. Chuyển đoạn tương hỗ dễ phát hiện hơn chuyển đoạn không tương hỗ trừ trường hợp đoạn cho có kích thước dài. Chuyển đoạn nhiễm sắc thể có thể phát hiện dưới kính hiển vi ở giai đoạn trung kỳ của phân chia tế bào.

Người ta căn cứ vào tiếp hợp ở giảm phân của cặp nhiễm sắc thể tương đồng để phát hiện ra chuyển đoạn. Ở thực vật có thể dựa vào hạt phấn bất dục do cách phân bố của nhiễm sắc thể đảo đoạn. Sự chuyển đoạn làm chết hạt phấn do bộ nhiễm sắc thể không cân bằng. Có thể dễ dàng phát hiện tỷ lệ các hạt phấn hữu thụ và bất thụ dưới kính hiển vi. Túi phôi của tế bào sinh dục cái có bộ nhiễm sắc thể không cân bằng sẽ không hoạt động được. Trong trường hợp đoạn chuyển có kích thước bé (có đoạn thiếu, có đoạn lặp lại bé) thì túi phôi mới hoạt động được.

Tóm lại nét riêng biệt của sự chuyển đoạn ở các thể dị hợp là sự có mặt của vòng tạo nên từ 4 nhiễm sắc thể ở phân bào giảm nhiễm thường giảm khả năng sinh sản ở động vật và thực vật.

Chuyển đoạn được sử dụng để làm sáng tỏ mối quan hệ giữa gen và nhiễm sắc thể, mối quan hệ về mặt tế bào và di truyền học. Người ta đã phối hợp giữa chuyển đoạn với các phương pháp khác để xác định vị trí tâm động và vị trí của đoạn đánh dấu tế bào học. Chuyển đoạn nếu xảy ra giữa các loài thì có thể chuyển gen từ loài này sang loài khác. Chuyển đoạn cùng với đảo đoạn tham gia vào sự phân hóa theo chiều dọc nhiễm

sắc thể nói chung và quá trình phân hóa nhiễm sắc thể thường thành nhiễm sắc thể giới tính.

Tóm lại, đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể gây nhiều loại biến đổi: thay đổi kiểu hình, thay đổi nhóm liên kết hay hiệu quả vị trí, có thể ảnh hưởng đến tiếp hợp trong giảm phân lần I và thường đưa đến bất dục với tỷ lệ nhất định hoặc gây chết. Các đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể có ý nghĩa tiến hóa nhất định, chúng tham gia vào cơ chế cách ly giữa các loài.

5.2 Đột biến về số lượng nhiễm sắc thể.

Ở tế bào soma hay tế bào sinh dưỡng, nhiễm sắc thể tồn tại thành cặp, trong mỗi cặp nhiễm sắc thể hai nhiễm sắc thể đơn có hình dạng, kích thước giống nhau tạo nên bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội ($2n$). Trong tế bào sinh dục, tạo ra qua giảm phân, nhiễm sắc thể tồn tại thành từng chiếc đơn lẻ tạo nên bộ nhiễm sắc thể đơn bội (n).

Trong một số trường hợp do tác động của một nhân tố nào đó làm cho số lượng nhiễm sắc thể trong bộ nhiễm sắc thể thay đổi, người ta gọi đó là đột biến số lượng nhiễm sắc thể hay đa bội thể.

Đa bội thể được hiểu theo nghĩa rộng là tất cả các hình thức thay đổi về số lượng nhiễm sắc thể, cơ thể có bộ nhiễm sắc thể thay đổi về số lượng được gọi là thể đa bội. Hiện tượng trong tế bào cơ thể có sự biến đổi số lượng nhiễm sắc thể gọi là hiện tượng đa bội thể.

Số lượng nhiễm sắc thể của các loài thường là bội số của số gốc nhiễm sắc thể (n) được ký hiệu là x . Tập hợp gen trong số gốc nhiễm sắc thể được gọi là bộ gen (genom).

Đa bội thể được phân thành: đa bội cân và đa bội lệch. Đa bội thể cân bằng hay đa bội nguyên là bộ nhiễm sắc thể có bội số chẵn của số nhiễm sắc thể cơ bản x , ví dụ dãy đa bội cân bằng $2x, 4x, 6x, 8x...$ Dãy đa bội gồm những bội số lẻ $3x, 5x, 7x...$ gọi là dãy không cân bằng.

Trong tự nhiên đa bội thể gặp rất phổ biến ở cây trồng và cây hoang dại, ở động vật trong tế bào soma cũng gặp các thể đa bội.

5.2.1 Tự đa bội thể (đồng nguyên đa bội thể) (Euploidy).

Là hiện tượng số lượng nhiễm sắc thể ở một cá thể được tăng lên theo bội số nguyên và cùng nguồn gốc. Sự tăng số lượng nhiễm sắc thể làm tăng số alen của mỗi locus dẫn tới nhiễm sắc thể trong giảm phân có sự thay đổi. Kết quả là kiểu gen và kiểu hình ở đời con rất phức tạp.

Nguyên nhân dẫn đến đa bội thể cùng nguồn:

- Do phân bào giảm nhiễm bị rối loạn, dây tơ vô sắc bị đứt hoặc không hình thành, nhiễm sắc thể nhân đôi bình thường nhưng không phân ly tạo nên các giao tử lưỡng bội. Giao tử này tham gia thụ tinh tạo nên hợp tử tứ bội (4x) hoặc kết hợp với giao tử bình thường khác tạo nên thể tam bội (3x).

- Do phân bào nguyên nhiễm xảy ra không bình thường ở đỉnh sinh trưởng hoặc ở các mô lưỡng bội khác. Nhiễm sắc thể nhân đôi bình thường, tập trung thành từng nhiễm sắc thể kép trên mặt phẳng xích đạo tế bào, nhưng lại không phân chia được tạo nên tế bào 4x. Các tế bào này tiếp tục nguyên phân tạo nên các mô, các cơ quan có bộ nhiễm sắc thể 4x.

- Do phân chia không bình thường của hợp tử sau khi hợp tử được hình thành tạo ra hợp tử có bộ nhiễm sắc thể 4x. Hợp tử phân chia tiếp tục để hình thành thể tứ bội (4x).

Như vậy có thể nói sự hình thành thể đa bội có 3 con đường cơ bản đó là: tăng số lượng nhiễm sắc thể ở tế bào soma, tăng số lượng nhiễm sắc thể ở hợp tử và tăng số lượng nhiễm sắc thể ở tế bào sinh dục.

5.2.2 Dị đa bội thể (dị nguyên đa bội thể) (Allopoloidy).

Hiện tượng thay đổi số lượng nhiễm sắc thể trong bộ nhiễm sắc thể do tổ hợp của hai hay nhiều loài.

Ví dụ loài A có bộ nhiễm sắc thể $2n = 20$, loài B có bộ nhiễm sắc thể $2n = 18$, cho lai giữa cá thể loài A với loài B, đời con sẽ có bộ nhiễm sắc thể là 19. Số lượng nhiễm sắc thể của con khác với số lượng nhiễm sắc thể loài A và cũng khác so với loài B. Trong bộ nhiễm sắc thể của con, một số nhiễm sắc thể có nguồn gốc từ A và một số có nguồn gốc từ B. Các nhiễm sắc thể có nguồn gốc khác nhau sẽ không tạo được các cặp tương đồng, do đó trong giảm phân không xảy ra hiện tượng tiếp hợp và không hình thành tứ tử, không hình thành các giao tử đực, cái. Do vậy, đối với các con lai khác loài thường không có khả năng sinh sản.

Để khắc phục hiện tượng bất dục ở con lai khác loài, người ta có thể gây đồng nguyên đa bội ở con lai lên 2 lần. Những cá thể có bộ nhiễm sắc thể được tăng lên 2 lần mới tạo ra được các cặp đồng nguồn, mới có khả năng sinh sản.

5.2.3 Lệch bội (Thể lệch bội).

Thể lệch bội là cơ thể có thêm hoặc mất đi từng nhiễm sắc thể riêng rẽ trong bộ nhiễm sắc thể của loài.

Nguyên nhân dẫn đến dị bội là do tác nhân đột biến làm đứt hoặc ức chế việc hình thành dây tơ vô sắc ở một hay một số cặp nào đó. Hiện tượng này sẽ tạo nên giao tử dị bội (không bình thường), khi thụ tinh kết hợp với giao tử bình thường hoặc không bình thường tạo nên các thể dị bội.

Các dạng đa bội thể lệch

- Thể một (monosomic)

Các sinh vật lưỡng bội có thể bị mất một nhiễm sắc thể của 1 cặp, thì gọi là thể đơn nhiễm, công thức bộ gen là $2n-1$. Một nhiễm sắc thể đơn độc, không có nhiễm sắc thể tương đồng để tiếp hợp, trong giảm phân có thể di chuyển về bất kỳ cực nào của tế bào, nhưng thường bị mất. Thể đơn nhiễm có thể tạo ra hai loại giao tử (n) và ($n-1$).

Ở thực vật, sự mất 1 nhiễm sắc thể có thể vẫn sống với một số biến dạng. Ở động vật, mất 1 nhiễm sắc thể làm mất cân bằng di truyền nên thường bị chết hoặc bất thụ.

- Thể ba (trisomic).

Thể lưỡng bội nếu có dư 1 nhiễm sắc thể một cặp nào đó được gọi là thể tam nhiễm, có công thức bộ gen là $2n+1$. Trong giảm phân, nhiễm sắc thể dư có thể tiếp hợp với hai cái kia thành bộ ba (tam trị). Nếu hai nhiễm sắc thể về một cực, cái lẻ về cực kia sẽ tạo ra hai loại giao tử ($n+1$) và (n) tương ứng. Tam nhiễm có thể tạo các kiểu hình khác nhau, phụ thuộc vào nhiễm sắc thể nào có 3 chiếc. Ở người, tam nhiễm ở nhiễm sắc thể 21 gây hội chứng Down.

- Thể bốn (tetrasomic).

Khi một cặp nhiễm sắc thể của sinh vật lưỡng bội có thừa hai nhiễm sắc thể thì gọi là tứ nhiễm, công thức bộ gen là $2n+2$. Trong giảm phân 4 nhiễm sắc thể tiếp hợp tạo thành bộ bốn hay tứ tử và có sự phân ly về các cực tương tự thể tứ bội.

- Thể không.

Sinh vật lưỡng bội bị mất cả hai nhiễm sắc thể của một cặp thì gọi là thể vô nhiễm, công thức bộ gen là $2n-2$. Vô nhiễm thường có hậu quả

gây chết. Một số đa bội thể thực vật có thể sống khi mất một cặp nhiễm sắc thể do sự bù đắp của các nhiễm sắc thể còn lại trong bộ gen.

- Đa bội thể lệch ở người.

Ở người nhiều hội chứng di truyền do các thể đa bội lệch làm thay đổi số lượng trong cặp nhiễm sắc thể giới tính đưa đến các dạng hội chứng như: Turner (XO), Klinefelter (XXY), siêu nữ (XXX), siêu nam (XYY) và YO.

6. Di truyền học giới tính

Từ lâu các nhà di truyền học đã qua tâm đến vấn đề giới tính. Vì sao các cá thể của cùng một loài, cùng cha mẹ, cùng môi trường sống như nhau nhưng khi sinh ra lại có sự khác nhau nhiều giữa đực và cái?. Ở người và vật nuôi có hai giới tính: đực và cái. Sự khác nhau giữa hai giới tính là do khác nhau về các đặc điểm giới tính, gồm có đặc điểm sơ cấp và đặc điểm thứ cấp. Đặc điểm sơ cấp là những đặc điểm có liên quan trực tiếp đến sự hình thành các giao tử đực, cái, như cấu tạo, chức năng của buồng trứng, dịch hoàn. Đặc điểm thứ cấp là những đặc điểm không liên quan trực tiếp đến hình thành giao tử nhưng phản ánh mức độ biểu hiện của đặc điểm sơ cấp, như cấu tạo cơ thể, giọng nói, mùi vị, bộ lông, tiếng gáy ở gia cầm....

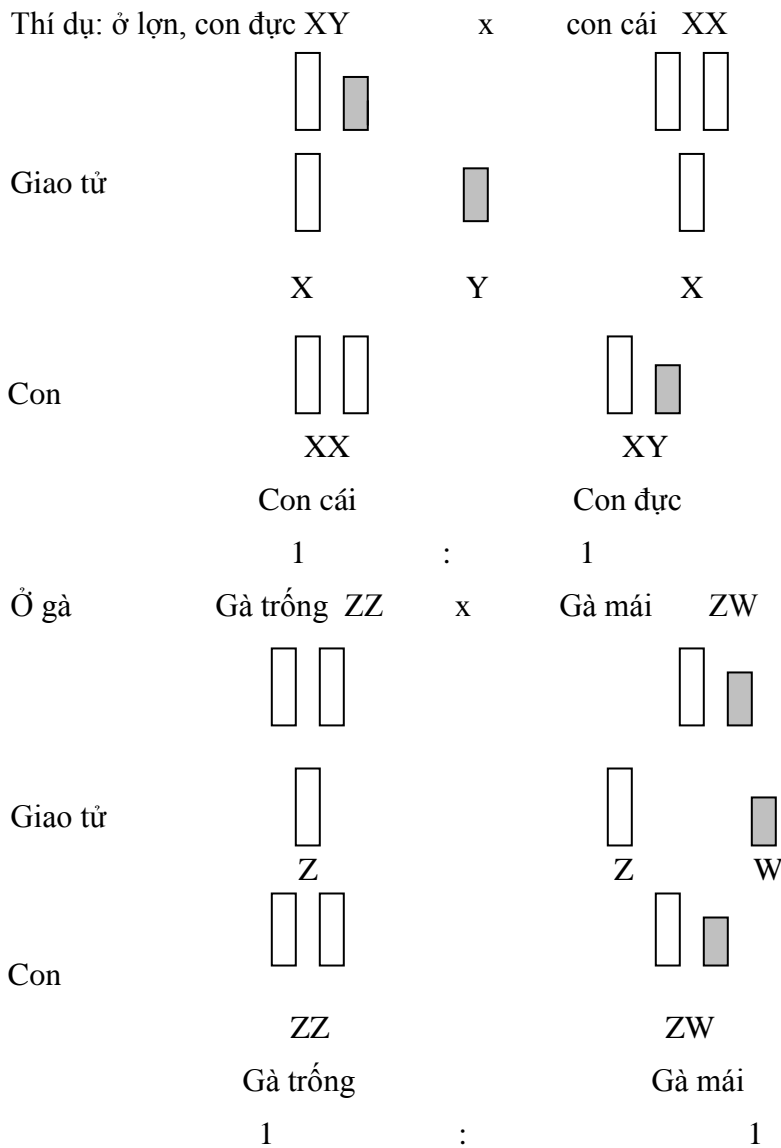
6.1 Nhiễm sắc thể giới tính.

Trong bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội ($2n$) của loài đa số là nhiễm sắc thể thường (autosome) chỉ có 1 cặp nhiễm sắc thể giới tính. Trên nhiễm sắc thể giới tính có các gen qui định sự hình thành và phát triển của các đặc điểm giới tính. Nếu trong cặp đó có hai nhiễm sắc thể giống nhau thì gọi là cơ thể đồng giao tử, còn trong đó có hai nhiễm sắc thể khác nhau gọi là cơ thể dị giao tử. Ở người và động vật có vú cá thể cái là đồng giao tử (XX), cá thể đực là dị giao tử (XY). Cơ thể đồng giao tử khi phát sinh giao tử chỉ cho một loại giao tử (X), còn cơ thể dị giao tử khi phát sinh giao tử cho ra hai loại giao tử (X và Y).

6.2 Xác định giới tính ở động vật.

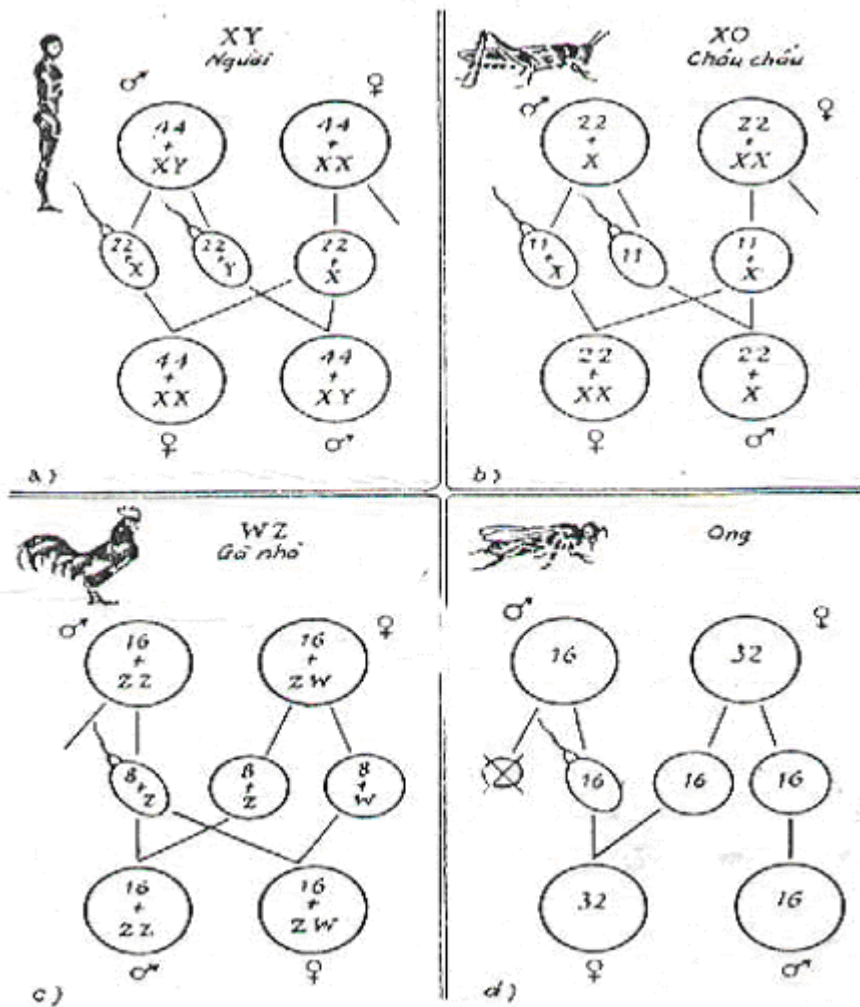
6.2.1 Cơ chế XY, XX và ZW, ZZ

Cơ chế xác định giới tính là do kết hợp giữa các giao tử bố mẹ mang các nhiễm sắc thể giới tính để hình thành cặp nhiễm sắc thể sinh dục ở con. Nếu cặp nhiễm sắc thể đó là XX cho con cái còn nếu cặp đó là XY cho con đực.



6.2.2 Đơn bội, lưỡng bội.

Con ong đực được phát triển trình sinh, từ trứng không thụ tinh và có bộ nhiễm sắc thể đơn bội (n). Trong kiểu xác định giới tính này không có nhiễm sắc thể giới tính. Số lượng cá thể của đàn và thức ăn cho ấu trùng sẽ xác định ong cái trở thành ong thợ bất thụ hay ong chúa hữu thụ, chuyên sinh sản. Tỷ lệ giới tính của đàn ong được xác định do ong chúa.



Hình 25. Các hệ thống xác định giới tính ở động vật

Phần lớn trứng được thụ tinh trở thành ong thợ. Thường ong chúa chỉ thụ tinh một lần trong đời.

Sự xác định giới tính này liên quan đến bộ nhiễm sắc thể đơn bội hay lưỡng bội. Con đực thì đơn bội còn con cái thì lưỡng bội, trong số con cái chia ra ong chúa hữu thụ và ong thợ bất thụ.

6.2.3 Giới tính do cân bằng di truyền.

Ở ruồi dấm sự hiện diện của nhiễm sắc thể Y rất quan trọng cho sự hữu thụ của ruồi đực, nhưng nó không có vai trò trong sự xác định giới tính. Các nhân tố xác định giới tính của ruồi dấm nằm trên tất cả nhiễm sắc thể thường (autosome) trong trạng thái đối trọng với các nhân tố xác định tính cái trên nhiễm sắc thể X. Nếu bộ đơn bội của nhiễm sắc thể thường mang các nhân tố xác định tính đực có giá trị bằng 1 thì mỗi nhiễm sắc thể X mang các nhân tố xác định tính cái có giá trị là $1\frac{1}{2}$, qui ước A đại diện bộ nhiễm sắc thể đơn bội thường. Ở ruồi đực bình thường (AAXY), tỷ lệ các nhân tố xác định đực-cái là: $2: 1\frac{1}{2}$ nên sự cân bằng lệch về tính đực. Ruồi cái bình thường (AAXX), lệch về tính cái.

Một số trường hợp bất thường, xác định giả thuyết cân bằng di truyền, ruồi XXY là cái, còn XO là đực.

6.2.4 Giới tính đực xác định do môi trường.

Đây là cơ chế xác định giới tính rất ít khi gặp, xuất hiện ở loài giun biển *Bonellia viridis*. Các ấu trùng xuất hiện sau khi được thụ tinh sống tự do một thời gian, nếu sống ở đáy biển thì trở thành con cái còn nếu chui vào con khác và sống ký sinh trong đó sẽ trở thành con đực. Cả con đực và cái đều có kiểu gen như nhau.

6.2.5 Xác định giới tính thông qua tuyến sinh dục.

Sự biệt hóa tinh hoàn hay buồng trứng từ một tuyến sinh dục non chưa phân biệt đực cái đực qui định bởi các gen qui định tính đực nằm trên nhiễm sắc thể Y. Những gen này tổng hợp loại protein đặc biệt, gọi là kháng nguyên H-Y, có trên bề mặt của mọi tế bào mang nhiễm sắc thể Y. Gen kháng nguyên H-Y hoạt động rất sớm, lúc phôi chuột có 8 tế bào. Dù mọi tế bào phôi chuột đều có kháng nguyên này, nhưng kháng nguyên H-Y chỉ kích thích mầm sinh dục biệt hóa thành tinh hoàn. Khi phôi không có tế bào mang kháng nguyên này, mầm sinh dục sẽ biệt hóa thành buồng trứng.

6.2.6 Xác định giới tính thông qua tế bào sinh trưởng.

Mầm sinh dục đực phát triển thành tinh hoàn, tiết ra hormon testosterol. Hormon này chạy khắp các tế bào phôi, kích thích các tế bào sinh trưởng kể các tế bào sinh trưởng của tuyến sinh dục phát triển theo

hướng đực. Khi không có tín hiệu hormon trên thì các tế bào sinh trưởng sẽ phát triển theo hướng cái.

Sự phát triển theo hướng đực được tiến hành dưới sự kiểm soát của gen T^{fm} nằm trên nhiễm sắc thể X. Gen này qui định việc tổng hợp một loại protein gắn vào testosterone, có trong tế bào chất của mọi tế bào con đực cũng như con cái. Đây là một loại protein điều hòa, được hoạt hóa khi gắn vào testosterone, hợp chất này đi vào trong nhân tế bào và kích thích hoạt động của gen biệt hóa tính đực.

Các đột biến của gen T^{fm} được phát hiện ở nhiều loài kể cả ở người gây nên hội chứng nữ hóa tinh hoàn (testicular feminization). Các tế bào của phôi đột biến không chịu tác động của testosterone. Kết quả là thai có tinh hoàn phát triển nhưng các tế bào sinh trưởng phát triển theo hướng cái. Tinh hoàn tiết ra hormon đực kìm hãm sự phát triển của vòi fallope và tử cung, con vật không có khả năng sinh sản.

6.2.7 Xác định giới tính do đơn gen.

Ít nhất có 2 loài của bộ côn trùng *Hymenoptera* có các cá thể đực đồng hợp tử ở 1 gen hoặc ở trạng thái đơn bội. Gen này ở *Habrobracon juglandis* có ít nhất 9 alen giới tính được ký hiệu là $S^a, S^b, S^c, S^d, S^e, S^g, S^f, S^h, S^i$. Tất cả các cá thể cái đều dị hợp tử như S^aS^b, S^aS^c, S^dS^f ... Nếu cá thể đồng hợp tử ở bất kỳ alen nào như S^aS^a, S^cS^c ... chúng được phát triển thành giống đực lưỡng bội (thường bất thụ). Các cá thể đực đơn bội chỉ mang 1 alen như S^a, S^c, S^g ... Sự xác định giới tính được minh họa bằng ví dụ sau:

	P	S^aS^b	x	S^a	
		Cái lưỡng bội		đực đơn bội	
Giao tử	S^a	S^b		S^a	
F ₁	S^aS^a	S^a		S^aS^b	S^b
	đực lưỡng bội	đực đơn bội		cái lưỡng	đực đơn bội

Trong thế hệ lưỡng bội tỷ lệ sẽ là: 1 S^aS^a đực : 1 S^aS^b cái

đơn bội tỷ lệ sẽ là : 1 S^a đực : 1 S^b đực.

6.3 Sự di truyền liên kết với giới tính.

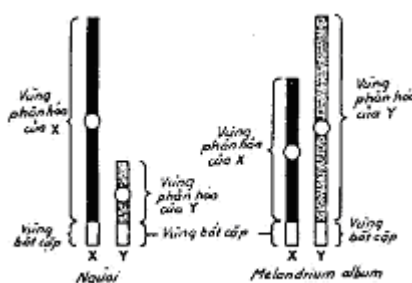
Các gen nằm trên nhiễm sắc thể giới tính sẽ có sự di truyền khác hơn so với các gen nằm trên nhiễm sắc thể thường. Sự di truyền của các gen này đồng thời với sự phân ly giới tính được gọi là di truyền liên kết

với giới tính. Sự di truyền này có nhiều kiểu khác nhau, phụ thuộc vị trí gen ở đoạn nào của nhiễm sắc thể giới tính.

6.3.1 Sự phân hóa di truyền các đoạn của X và Y.

Các nhiễm sắc thể giới tính có thể phân ra các phần khác nhau. Các đoạn khác nhau này có thể phát hiện được khi nghiên cứu phân bào giảm nhiễm ở cá thể đực và cái. Khi tiếp hợp, các đoạn mà nhiễm sắc thể X và Y bắt cặp với nhau được coi là tương đồng hay đoạn bắt cặp. Các gen trên đoạn này có sự di truyền như nhau ở cả X và Y và như trên nhiễm sắc thể thường.

Phần còn lại của nhiễm sắc thể X không bắt cặp với Y là đoạn chuyên hóa của X. Các gen ở đoạn này sẽ có di truyền liên kết với X. Phần còn lại của nhiễm sắc thể Y không bắt cặp với X là đoạn chuyên hóa của Y. Các gen ở đoạn này sẽ có di truyền liên kết với Y.



Hình 26. Sự phân hóa di truyền các đoạn của nhiễm sắc thể X và Y

6.3.2 Các gen liên kết với nhiễm sắc thể giới tính X.

6.3.2.1. Bệnh máu không đông.

Hiện nay người ta đã phát hiện được 2 dạng của bệnh là dạng A và dạng B. Cả 2 dạng này đều do 1 gen lặn liên kết giới tính nằm trên nhiễm sắc thể X qui định. Bệnh đã được phát hiện ở người, chó.

Bệnh máu không đông dạng A: xảy ra do trong máu người bệnh thiếu một yếu tố tham gia vào quá trình đông máu, đó là yếu tố VIII. Yếu tố này thúc đẩy việc tạo thrombin và prothrombin, làm cho máu khó đông hơn bình thường. Khi trẻ con bị bệnh này, mới sinh nhận được một lượng lớn yếu tố VIII từ mẹ, sau đó trẻ lớn dần, lượng máu trong cơ thể tăng dần làm cho hàm lượng yếu tố VIII giảm dần, ngoài ra một lượng nhất định cũng bị phân hủy theo thời gian và cơ thể trẻ bị thiếu yếu tố này. Lúc đó một vết thương nhỏ cũng gây nguy hiểm cho trẻ vì máu khó đông. Nếu không có biện pháp can thiệp nào thì trẻ sẽ bị chết khi thay răng. Nếu được truyền máu thì trẻ có thể vượt qua được và trưởng thành. Tuy nhiên

người ta ghi nhận rằng những người mang bệnh này thường sống không quá 40 tuổi.

Tương tự như người, chó con bị bệnh thường chết ở lứa tuổi từ 6 tuần đến 3 tháng.

Bệnh máu không đông dạng B hay còn gọi là bệnh *Christmas*, do được phát hiện lần đầu tiên trong gia đình họ Christmas, ít nguy hiểm hơn bệnh dạng A, không làm chết người, chó bị bệnh. Bệnh do hoạt động kém của yếu tố đông máu thứ IX. Bệnh do một gen lặn liên kết với nhiễm sắc thể X.

	Bố bình thường	XY	x	Mẹ bình thường	X ^h X
Giao tử	X	Y		X ^h	X
Thế hệ con	X ^h X	X ^h Y		XX	XY

Cái bình thường, Đực mắc bệnh, Cái bình thường, Đực bình thường

Do đó, nếu không có sự can thiệp của y học thì chỉ có trường hợp mẹ mang bệnh tiềm ẩn sẽ truyền lại cho con trai. Không có trường hợp bố truyền lại cho con vì tất cả các cá thể đực bị bệnh đều chết và không có các cá thể đực mang bệnh tiềm ẩn.

6.3.2.2 Mèo tam thể

Ở mèo, màu lông đen do một gen lặn điều khiển liên kết với nhiễm sắc thể giới tính X, ký hiệu là X^B trội không hoàn toàn so với gen b (qui định màu lông nâu đỏ). Các mèo dạng X^BX^b có 3 màu lông: đen, đỏ nâu và trắng chen lẫn nhau. Do đó về mặt di truyền người ta quan sát sau:

Mèo đực kiểu gen X^BY có lông màu đen.

Mèo đực kiểu gen X^bY có lông màu đỏ nâu.

Mèo cái kiểu gen X^BX^B có lông màu đen.

Mèo cái kiểu gen X^BX^b có lông tam thể

Mèo cái kiểu gen X^bX^b có lông đỏ nâu.

6.3.3 Các gen liên kết với nhiễm sắc thể giới tính Y.

Thường nhiễm sắc thể Y chứa ít gen, nhưng nếu chứa một gen nào đó thì được di truyền theo dòng đực (cho con trai).

Ở loài cá *Lebistes*, nhiễm sắc thể Y mang gen đực gọi là *maculatus* (tính đực) xác định các đốm sắc trên lưng. Kiểu hình này được

truyền từ cá cha cho cá con đực, cá cái không có biểu hiện của tính trạng này. Đây là thí dụ rất rõ về sự di truyền liên kết với Y.

Ở người có đặc điểm túm lông mọc trên mái tai, màng bơi ở tay (bệnh dính ngón thứ 2 và thứ 3), mi mắt thứ 3 có sự di truyền liên kết với nhiễm sắc thể Y.

6.4 Các tính trạng bị ảnh hưởng bởi giới tính và tính trạng bị hạn chế bởi giới tính.

6.4.1. Tính trạng bị ảnh hưởng bởi giới tính (phụ thuộc giới tính).

Các tính trạng bị kiểm soát bởi giới tính của cá thể được gọi là các tính trạng bị ảnh hưởng bởi giới tính. Các gen chi phối các tính trạng này có thể nằm trên bất kỳ một cặp nhiễm sắc thể thường nào hay ở phần tương đồng của các nhiễm sắc thể giới tính. Trong mối quan hệ tương tác giữa gen và môi trường để qui định kiểu hình cụ thể, có một số gen ở cơ thể chịu ảnh hưởng tác động của hormon sinh dục đực và cái khác nhau. Do vậy, sự biểu hiện ra kiểu hình của tính trạng là khác nhau ở 2 giới tính. Các alen có thể biểu hiện theo kiểu trội ở giống đực và theo kiểu lặn ở giống cái và ngược lại.

Ví dụ đặc điểm có sừng và không có sừng ở cừu.

Cừu Dorset (cả 2 giới có sừng) cho lai với cừu Suffolk (cả 2 giới đều không có sừng), F_1 nhận được những con đực có sừng, con cái không có sừng. F_2 nhận được ở con đực (3 có sừng: 1 không sừng), ở con cái (3 không sừng: 1 có sừng).

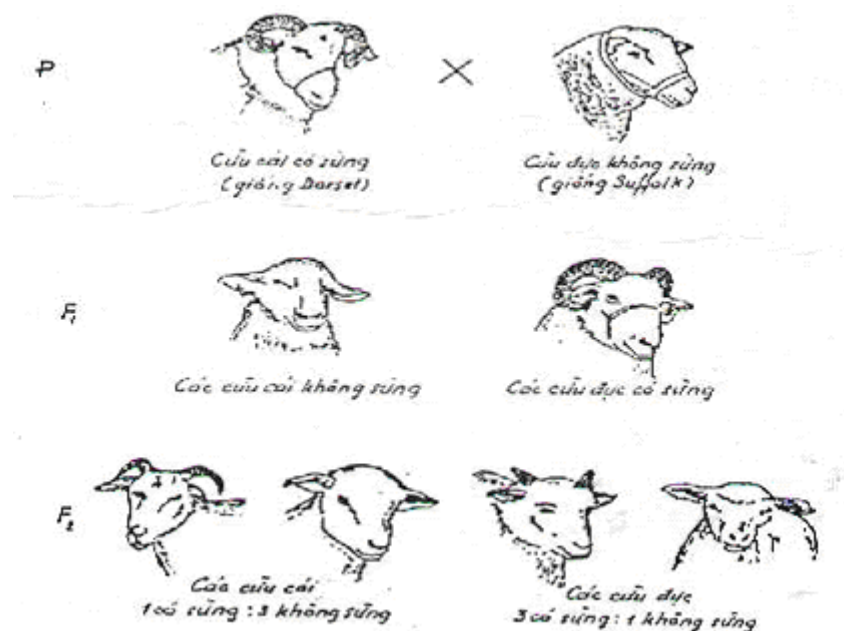
Ví dụ màu lông vàng nhạt và trắng ở bò Ayshire. Nếu con đực đồng hợp về gen nâu, vàng nhạt và trắng giao phối với con cái đồng hợp về gen lông đỏ và trắng thì tất cả các con đực F_1 có lông nâu, vàng nhạt và trắng, còn các con cái có lông đỏ và trắng.

Khi cho các con F_1 này giao phối với nhau, thì ở F_2 sẽ có 3 nâu, vàng nhạt, trắng : 1 đỏ, trắng ở những con đực, còn 3 đỏ, trắng : 1 nâu, vàng nhạt, trắng ở những con cái.

6.4.2 Tính trạng bị hạn chế bởi giới tính.

Có những tính trạng, mặc dù các gen xác định chúng nằm trên nhiễm sắc thể thường, tức là có ở cả 2 giới tính, nhưng chỉ được biểu hiện ở một giới tính do sự khác nhau về hormon nội môi hay do cấu tạo cơ thể khác nhau giữa 2 giới tính. Đó là những tính trạng bị hạn chế bởi giới tính.

Ví dụ, các tính trạng cho sữa ở bò, cho trứng ở gia cầm..... chỉ xuất hiện ở con cái mà không xuất hiện ở con đực, mặc dù ở con đực và con cái đều có gen qui định các tính trạng trên. Vì vậy, trong chọn giống và nhân giống vật nuôi chúng ta cần quan tâm chọn cả đực và cái về các tính trạng trên.



Hình 27. Gen có sừng ở cừu biểu hiện phụ thuộc giới tính.

6.5 Điều hòa giới tính ở động vật

6.5.1 Điều hòa giới tính ở cá.

Một số loài cá nhiệt đới, trong cùng một loài có thể có cả hai hệ thống xác định giới tính. Do vậy, người ta có thể chọn đôi giao phối để làm thay đổi tỷ lệ đực/cái ở thế hệ con.

Cá rô phi (*Tilapia mossambica*) có nguồn gốc Châu Phi, thuộc giống dị giao tử cái, còn cá rô phi Mã Lai thuộc giống dị giao tử đực. Điều này việc chọn đôi giao phối sẽ cho kết quả khác nhau ở thế hệ con.

Sử dụng các phép lai khác nhau cho kết quả khác nhau:

Trường hợp 1.

Cá cái Châu Phi XY x cá đực Mã Lai XY

Đời con 1 cá cái XX : 2 cá đực XY : 1 cá đực YY

Trường hợp 2.

Cá cái Mã Lai XX x cá đực Châu Phi YY

Đời con 100% cá đực XY

Phép lai cho đời con toàn cá đực, thích hợp cho việc nuôi cá thịt vì con đực lớn nhanh hơn. Đồng thời con đực không sinh sản nên ao nuôi không bị tình trạng mật độ quá đông và tuổi cá đồng đều nên dễ áp dụng các biện pháp kỹ thuật nuôi dưỡng.

6.5.2 Điều hòa giới tính ở động vật có vú.

Thành tựu phát hiện thể Barr (nhiễm sắc chất sinh dục) cho phép người ta chẩn đoán giới tính của thai nhi rất sớm.

Thể Barr là một vật thể giới tính, bắt màu sẫm, phát hiện ở kỳ trung gian, nằm sát màng nhân, có ở tế bào khoang miệng, tế bào xoang ôi và tế bào âm đạo...chỉ có ở con cái, nữ giới mà không có ở con đực, nam giới. Thực nghiệm chứng minh rằng, thể Barr là một nhiễm sắc thể X bị bất hoạt di truyền (M. Lyon, 1962), ở dạng dị nhiễm sắc chất (heterochromatin), có nguồn gốc từ cha hay mẹ và xuất hiện trong phôi non 12-14 ngày.

Do đó, nếu làm tiêu bản tế bào học người ta có thể phát hiện được giới tính của thai thông qua sự hiện diện của thể Barr, sau đó quyết định các biện pháp nuôi dưỡng tiếp theo.

Hiện nay người ta cũng đã xây dựng được các kỹ thuật thụ tinh tế bào trứng ngoài cơ thể mẹ, xây dựng các điều kiện nuôi cấy phôi trong giai đoạn đầu, chẩn đoán giới tính của thai và chuyển ghép hợp tử để nuôi trong một cơ thể khác. Kỹ thuật này đã thực hiện thành công trên thỏ, lợn, bò, cừu và cả ở người.

6.5.3 Điều hòa giới tính ở tằm (sinh sản đơn tính).

Austaurov đã tác động lên quá trình giảm phân để thực hiện sinh sản đơn tính trong chăn nuôi tằm, sản xuất tơ. Để tạo tằm cái XY, ông dùng nhiệt độ 45°C tác động trong 18 phút trong quá trình hình thành tế bào sinh dục cái làm kìm hãm sự phân ly nhiễm sắc thể. Tế bào trứng hình thành vẫn còn cặp nhiễm sắc thể XY, sau đó phát triển không qua thụ tinh, cho hoàn toàn tằm cái.

Đề tạo tầm đực, ông dùng tia X liều cao tác động lên trứng tầm trong 135 phút ở nhiệt độ 40°C. Kết quả là nhân của trứng bị hủy hoại, không tham gia tạo thành phôi. Khi thụ tinh, ông nhận thấy các trứng không nhân có nhiều tinh trùng xâm nhập và có hiện tượng hai nhân của tinh trùng kết hợp nhau và tạo trứng thụ tinh XX, phát triển thành tầm đực.

6.6 Ứng dụng di truyền liên kết giới tính trong chăn nuôi.

6.6.1. Ứng dụng trong tạo giống gia cầm.

Trong chăn nuôi các giống gà trống, việc phân biệt trống, mái sớm sẽ giúp ích rất nhiều cho người chăn nuôi trong việc tách đàn và áp dụng qui trình nuôi dưỡng riêng biệt cho gà hậu bị.

Trước đây, các nhà chăn nuôi vẫn cố gắng tìm cách lựa gà mái 1 ngày tuổi thông qua việc quan sát gai sinh dục trong lỗ huyết gà con. Tuy nhiên việc chọn gà như thế đòi hỏi kỹ thuật chuyên môn và độ chính xác phụ thuộc rất nhiều vào tính chất lành nghề của người lựa gà. Do đó các nhà di truyền giống gà tìm cách tạo đàn gà con đặc biệt, cho phép người chăn nuôi có thể dựa vào một tính trạng ngoại hình nào đó, liên kết với giới tính để chọn lựa trống, mái.

6.6.2 Phân biệt giới tính gà con mới nở thông qua tốc độ mọc lông.

Tốc độ mọc lông ở gà là tính trạng di truyền, được qui định bởi gen K và k, liên kết giới tính, nằm trên nhiễm sắc thể X. Gen X^K qui định mọc lông muộn và gen X^k qui định mọc lông sớm.

Gà con 8-10 ngày tuổi, thuộc các kiểu gen X^kX^k (gà trống) và X^kY (gà mái) có lông cánh mọc dài tận đuôi và lông đuôi mọc được 1,2 cm.

Trong khi các gà con lứa tuổi ấy thuộc các kiểu gen X^KX^K , X^KX^k , X^KY vẫn chưa có lông đuôi và lông cánh vẫn còn rất ngắn.

Khi cho lai gà trống mọc lông sớm (X^kX^k) với gà mái mọc lông muộn (X^KY), các con trống thế hệ sau (X^KX^k) sẽ mọc lông muộn, con mái (X^kY) sẽ mọc lông sớm. Người ta ứng dụng công thức này để chọn trống, mái theo độ dài của lông cánh lúc gà con 8 ngày tuổi, chính xác đến 95%.

6.6.3 Phân biệt trống mái thông qua màu sắc lông

Màu lông vằn của gà Plymouth biểu hiện bằng dây sắc tố đen chen lẫn với dây không sắc tố (trắng) được điều khiển bởi 1 gen trội liên kết với giới tính, nằm trên nhiễm sắc thể X, ký hiệu là X^B trội so với lông màu nâu đỏ của gà Rhode Island Red, ký hiệu là X^b .

Khi cho lai giữa gà trống Plymouth với gà mái Rhode Island Red thì tất cả gà con sinh ra đều có lông màu vàng. Tuy nhiên công thức lai ngược lại sẽ cho tất cả gà trống có lông vàng ($X^B X^b$) và gà mái đều có lông nâu đỏ ($X^b Y$). Do đó người ta áp dụng công thức này để tạo đàn gà con khác biệt về màu lông và có thể phân biệt trống, mái khi gà con mới nở. Gà trống mới nở sẽ có màu trắng sáng và có đốm trắng trên đầu, trong khi gà mái con có lông màu vàng nhạt.

Công thức lai tương tự cũng được quan sát trên gà Sussex và gà Rhode Island Red, màu lông ánh bạc của gà Sussex cũng do 1 gen điều khiển liên kết giới tính nằm trên nhiễm sắc thể X, gen này trội so với màu lông nâu đỏ của gà Rhode Island Red.

7. Bản đồ gen động vật.

7.1. Nguyên tắc lập bản đồ gen.

Morgan là người đầu tiên cho rằng, tần số trao đổi chéo giữa hai gen được xác định bởi khoảng cách giữa hai gen ấy trên nhiễm sắc thể. Khoảng cách giữa hai gen càng gần thì khả năng xảy ra trao đổi chéo càng ít (tần số trao đổi chéo càng thấp), ngược lại khoảng cách giữa hai gen càng xa thì khả năng xảy ra trao đổi chéo càng nhiều (tần số trao đổi chéo càng cao). Trong thí nghiệm của Morgan, các số liệu thu được về tái tổ hợp được sử dụng để xác định mối quan hệ vị trí giữa các gen sắp xếp thành đường thẳng trên nhiễm sắc thể, được gọi là bản đồ liên kết hoặc bản đồ gen, bản đồ di truyền.

Bản đồ liên kết (hay là bản đồ di truyền) sử dụng các số liệu về tần số trao đổi chéo của các giao tử (hoặc các cá thể), tức là tần số tái tổ hợp qua lai để xác định khoảng cách giữa các gen.

Morgan và Sturtevant nêu lên khoảng cách giữa các gen trên nhiễm sắc thể được đo bằng đơn vị bản đồ di truyền, đó là cứ 1% tần số trao đổi (tái tổ hợp) tương ứng với 1 đơn vị Morgan (centimorgan, CM).

7.2 Bản đồ gen vật nuôi.

Những năm gần đây người ta đã tiến hành các công trình nghiên cứu trên vật nuôi như bò, lợn, cừu, gia cầm... để xây dựng bản đồ gen.

Qua bản đồ gen, người ta sẽ nắm được cơ chế kiểm soát di truyền các phức hợp tính trạng như sinh trưởng, sinh sản của gia súc, gia cầm, xác định được cơ sở phân tử của từng tính trạng, từng kiểu hình. Xây dựng

bản đồ gen ngày nay đã được thừa nhận rộng rãi là một phương pháp chủ yếu để nghiên cứu di truyền từng sinh vật, bao gồm các loại vật nuôi.

7.2.1. Bản đồ gen gà.

Các nhà khoa học đã giải mã được bộ gen gà và cho thấy chúng có 60% tương tự với gen người, đồng thời có một tổ tiên chung sống cách đây 310 triệu năm.

Với ước tính khoảng 20.000-23.000 gen, bản đồ trình tự gen của những con gà rừng lông đỏ, tổ tiên của gà nuôi ngày nay, có số lượng gen gần như tương tự với con người. Đây là loài chim đầu tiên và hậu duệ đầu tiên của khủng long được giải mã gen.

Các nhà khoa học hy vọng bằng cách phân tích gen gà, họ sẽ tìm hiểu thêm được các căn bệnh phát triển ở người như hở vòm miệng, teo cơ, sự thay đổi DNA do tuổi già và gen trong sự phát triển phôi thai. Trình tự gen cũng có thể giúp các nhà nghiên cứu tạo ra những loài gà chống bệnh tốt và cho sản lượng cao, đồng thời giúp ngăn chặn sự phát tán virus như virus cúm gà ở châu Á.

"Việc giải mã được gen gà sẽ cho chúng ta một cái nhìn mới mẻ về gen người", Richard Wilson tại Đại học Washington, Giám đốc Hiệp hội quốc tế giải mã gen, nhận định.

7.2.2 Bản đồ gen người

Một nhóm các nhà nghiên cứu quốc tế đã công bố bản đồ chức năng chi tiết của hơn 21.000 gen người trên Internet. Dự án này đặt nền móng giúp giới khoa học tìm ra mối liên hệ giữ chức năng của gen, sản phẩm của chúng và tác động lâm sàng của mỗi gen đối với sức khỏe con người.

Trưởng nhóm nghiên cứu Takashi Gojobori thuộc Viện Di truyền quốc gia Nhật Bản cho biết: "Chúng tôi tin tưởng rằng bất kỳ nhà nghiên cứu nào sử dụng cơ sở dữ liệu của chúng tôi sẽ hiểu rõ hơn các căn bệnh ở người so với trước đây". Tổng cộng có 152 nhà khoa học từ 40 viện tại nhiều nước bao gồm Mỹ, Australia, Trung Quốc, Hàn Quốc và Nam Phi tham gia vào dự án phân tích chi tiết gen người mang tên H-Invitational.

Con người có khoảng 30.000 gen. Bản đồ chi tiết của các gen này sẽ giúp ích rất nhiều cho các nhà di truyền học, các nhà nghiên cứu thuốc, và bác sĩ trên khắp thế giới. Cơ sở dữ liệu bao gồm chi tiết về cấu trúc gen, chức năng, các dạng khác nhau của protein do gen mã hoá, dạng

không mã hoá của vật liệu di truyền, các địa điểm trong tế bào nơi gen hoạt động, cơ chế chuyển hoá, dự đoán cấu trúc ba chiều của protein và so sánh với gen chuột.

Dữ liệu chi tiết về 21.037 gen là kết quả của nỗ lực nghiên cứu trong vòng hai năm và cũng là dữ liệu lớn nhất thuộc loại này. Mặc dù bản đồ phác thảo gen người, được công bố cách đây ba năm, là một trong những thành tựu vĩ đại của khoa học hiện đại song đó mới chỉ là bước đi đầu tiên. Giới khoa học vẫn cần diễn dịch nguồn thông tin thô, khổng lồ này.

Phân tích cũng chỉ ra rằng khoảng 4% bộ gen người khuyết thiếu hoặc được lắp ráp sai. Theo GS Brookes, một thành viên của nhóm nghiên cứu, điều đó ủng hộ giả thuyết rằng nhiều DNA của con người không có chức năng. Ông nói: "Bộ gen người không phải do một nhà lập trình máy tính thiết kế. Nó liên tục tiến hoá. Có những đoạn gen và phân tử DNA không làm việc nhiều. Có thể là chúng đã từng hoạt động tích cực song hiện giờ thì không hoặc có thể chúng đang tiến hoá một chức năng nào đó".

8. Công nghệ tế bào động vật.

8.1. Tế bào lai và kháng thể đơn dòng.

Kỹ thuật tế bào lai đã mở ra một con đường mới trong miễn dịch học, để sản xuất hàng loạt *vacxin*. Kỹ thuật tế bào lai được tạo ra trong phòng thí nghiệm bằng cách cho lai giữa hai loại tế bào sinh kháng thể với loại tế bào ung thư.

Trước đây phương pháp cổ truyền để sản xuất *vacxin* là dùng tiêm chủng, tức là tiêm kháng nguyên vào cơ thể động vật và thu được kháng thể tạo thành trong huyết thanh, làm thành kháng huyết thanh. Chất lượng kháng huyết thanh phụ thuộc vào hàm lượng kháng thể và các tạp chất còn lại.

Gần đây người ta cũng đã tạo kháng thể bằng nuôi cấy tế bào, nhưng theo hướng này phải định kỳ làm lại sau mỗi lần thu hoạch, vì trong điều kiện nuôi cấy, do tình trạng các tế bào dễ tiếp giáp nhau nên thường các tế bào chỉ phân chia một số lần sau đó không tiếp tục nữa. Hiện nay với công nghệ di truyền, người ta đã giải quyết được khó khăn nêu trên, đã phát hiện và sử dụng một loại tế bào nuôi cấy có khả năng phân chia không ngừng.

Như chúng ta đã biết, sự phân ly nhiễm sắc thể trong quá trình sinh sản ở tế bào nuôi cấy được tiến hành qua nguyên phân. Thường thì

một dòng tế bào là con cháu được sinh ra từ một tế bào, do đó được gọi là dòng hay từ một số tế bào của một loại tổ chức.

Để có các dòng tế bào có khả năng phân chia liên tục, người ta đã sử dụng loại tế bào ung thư. Cho lai tế bào ung thư với một loại tế bào động vật có vú với chức năng sản sinh kháng thể, tạo ra tế bào lai nuôi cấy, có thể sinh sản liên tục để tạo ra khối lượng lớn kháng thể. So với loại kháng thể thu được thông qua các vật nuôi như cừu, ngựa, thỏ..., thì loại kháng thể này tuyệt đối tinh khiết.

Hiện nay nhiều phòng thí nghiệm đã sử dụng phương pháp cho lai tế bào lách của chuột nhắt đã được miễn dịch (tạo được kháng thể) với tế bào u tủy xương. Tế bào lai sinh ra có khả năng phân chia bình thường, liên tục, tạo ra một loại kháng thể có khối lượng lớn, đặc trưng cho một dòng tế bào, vì vậy được gọi là kháng thể đơn dòng.

Sử dụng kháng thể đơn dòng đã nhanh chóng thay thế các phương pháp miễn dịch và huyết thanh học thông thường. Nhờ tính đặc hiệu và chính xác cao, sử dụng dễ dàng, kháng thể đơn dòng đã tạo ra một hướng phát triển mạnh mẽ nhất của công nghệ tế bào.

8.2. Lai khác loài tế bào soma động vật.

Năm 1960, người ta đã chứng minh, khi nuôi cấy chung tế bào thuộc hai dòng khác nhau, chúng có thể kết hợp với nhau tạo thành tế bào lai, chứa bộ gen của hai tế bào ban đầu. Những tế bào lai thu được trong các thí nghiệm đầu tiên là do kết hợp trong nuôi cấy tế bào của các dòng khác nhau trong cơ thể chuột. Sau đó, ngoài các tế bào lai trong loài, người ta còn thu được các tế bào khác loài như lai giữa chuột nhắt với chuột cống, chuột nhắt với gà con và cả chuột nhắt với người.

Trong thực nghiệm lai tế bào người với tế bào chuột, trong dịch nuôi cấy, người ta đưa thêm vào một số chất xúc tác như polyethylenglycol, một loại keo hữu cơ hoặc đưa thêm một loại virus đã khử hoạt tính. Virus có một hoặc một số tiểu phần đặc thù, nhờ đó virus có thể dễ dàng kết hợp với thụ quan tế bào vật chủ, các tiểu phần này có kích thước rất nhỏ nên chúng làm cầu nối giữa hai tế bào và từ đó hình thành thể lưỡng hạch hai nhân. Sau đó hai hạch này hòa với nhau, tạo thành nhân hợp chứa nhiễm sắc thể của hai tế bào gốc ban đầu. Gần đây người ta sử dụng xung điện cao áp thúc đẩy sự dung hợp giữa hai tế bào.

8.3. Tạo dòng vô tính và vấn đề nhân bản động vật.

8.3.1 Khái niệm.

Vấn đề tạo dòng vô tính được phát triển ngày nay trong công nghệ sinh học hiện đại, công nghệ di truyền, công nghệ xuất phát từ các khái niệm cơ bản trong sinh học.

Sinh sản hữu tính là hình thức sinh sản phổ biến trong sinh giới, trong khi đó sinh sản vô tính chỉ tồn tại ở những cơ thể có cấu trúc tương đối đơn giản, thấy nhiều ở thực vật, như sinh sản sinh dưỡng, đâm cành...

Ở động vật bậc cao, sinh sản vô tính chỉ tồn tại ở giai đoạn phát triển sớm hoặc dưới hình thức biến dạng của sinh sản hữu tính, như hình thức đơn tính sinh, trinh sinh...

8.3.2 Tạo dòng vô tính ở động vật.

Nói một cách đơn giản đây là kỹ thuật nhân nhiều cá thể từ những tế bào vô tính. Năm 1952, Robert Briggs và Thomas King đã thành công trong thí nghiệm, nhân một trứng (noãn bào) của ếch có thể được thay bằng nhân lấy từ một tế bào phôi của một con ếch khác. Trứng được tiếp tục lớn lên, phát triển ra một con ếch trưởng thành, về di truyền giống hệt con ếch cho nhân. Bằng kỹ thuật này, người ta có thể sản xuất ra một số lượng lớn những con ếch giống hệt nhau về mặt di truyền.

Thành công thực nghiệm nói trên đã chứng minh cho giả thuyết là mỗi tế bào phôi sớm, khi hình thành đã chứa đựng mọi nhân tố cần cho sự phát triển đầy đủ một cá thể. Nhưng với động vật bậc cao (có vú) thì vấn đề còn khó khăn, không phải đơn giản như lưỡng thê, cũng không đơn giản như cây cà rốt, cây phong lanmọc lên từ một tế bào nuôi cấy. Tạo dòng vô tính (clon) bao hàm toàn bộ kỹ thuật nêu trên, là tạo ra một tập hợp cơ thể giống hệt nhau về mặt di truyền.

8.3.2.1 Công trình tạo cừ Dolly.

Đây là thành công của Wilmut và Campbell. Đối tượng ở đây không phải là những tế bào phôi nang mà là những tế bào lấy ra từ tuyến vú một cừ cái Finn Dorset, sáu năm tuổi, lông trắng. Ở thời kỳ 3 tháng cuối từ khi con cừ mang thai, là thời kỳ tế bào tuyến vú đã được biệt hóa cao độ và phát triển. Đen nuôi cấy *invitro* các tế bào tuyến vú, để 5 ngày trong môi trường nuôi cấy rất nghèo huyết thanh với mục đích là làm cho chu kỳ tế bào giảm từ từ cho tới ngưỡng hoàn toàn, giai đoạn này gọi là G₁. Sau đó làm lạnh, đưa mỗi tế bào tuyến vú vào một noãn (trứng) chưa thụ tinh, đã rút nhân của một cừ cái khác, đầu đen. Kết quả một tế bào mới được hình thành, phát triển tạo thành phôi. Đây là sự phối hợp giữa hai kỹ thuật: hoạt hóa trứng và lấy nhân ra của một cừ đen và làm ngừng chu kỳ tế bào

của tế bào tuyến vú cừu trắng, tức là những tế bào soma đã biệt hóa cao độ, tách từ một cơ thể trưởng thành- ở đây đã thành công trong kỹ thuật dung hợp tế bào. Thành công này đã vượt lên các công trình trước đó. Những công trình trước sở dĩ thất bại là do tế bào phôi sử dụng để chuyển nhân không được định vị ở giai đoạn G_1 và đã phát triển tới giai đoạn G_2 (pha tăng trưởng) hoặc S (pha tái bản, tổng hợp DNA), cản trở sự dung hợp tế bào.

Sống trong tử cung “của mẹ nuôi hộ” lông đen, nhưng cừu Dolly vẫn có lông trắng. Các phân tích, kiểm tra di truyền đã xác nhận, cừu Dolly là bản sao của cừu Finn Dorset, cừu đã cung cấp tế bào tuyến vú. Cừu Dolly sinh ngày 5-7-1996, có trọng lượng bình thường, không có biểu hiện dị dạng như các thực nghiệm trước. Thành công trên đã chứng tỏ,



Hình 28. Cừu Dolly

trong thực nghiệm đã có một động vật có vú lớn đã được nhân bản từ tế bào soma mà không cần có tác động gì của tế bào sinh dục, ngoài sinh chất của noãn bào.

Về chất lượng nói chung, nhân bản từ tế bào soma có thể tạo được được, cái ưu việt theo ý muốn. Tuy nhiên vẫn còn một vấn đề cần tiếp tục kiểm tra là vai trò của bào chất của trứng (noãn) khi dung hợp với tế bào soma (tuyến vú). Bản chất của trứng nhận nhân chuyển vào đã khởi động cho sự phát triển của phôi, trong đó sẽ phải làm rõ sự chuyển genôm mẹ vào genôm phôi đã diễn ra như thế nào. Vai trò của tế bào chất của noãn trong thực nghiệm dung hợp này. Hiện nay cần phải làm rõ, trong đó có sự chuyển đổi phân tử giữa bào chất của noãn với nhân chuyển đến.

Với sự phát triển của công nghệ sinh học hiện đại, công nghệ di truyền, thuật ngữ clone và cloning bao hàm khái niệm mở rộng, dòng gen, tạo dòng và tách dòng gen; là các kỹ thuật phân lập các gen quan trọng, cần thiết, qua vector đưa các gen này vào cơ thể vật chủ, vi khuẩn, nấm men....biến các vật chủ này thành các nhà máy tổng hợp các sản phẩm của

các gen trên, như enzym, hormon để sản xuất các sản phẩm sinh học như insulin, interferon, somatostatin...

8.3.2.2 Chuột nhân bản.

Các nhà khoa học thuộc Viện nghiên cứu nông nghiệp quốc gia Pháp tuyên bố đã nhân bản thành công cả chuột cái lẫn chuột đực. Như vậy, loài gặm nhấm này đã chính thức gia nhập danh sách các động vật được nhân bản từ tế bào trưởng thành.

Chuột đực nhân bản muộn hơn so với cừu, dê, bò, lợn, la và ngựa bởi giới khoa học gặp phải những khó khăn độc nhất vô nhị trong việc kiểm soát sự phát triển của trứng ở giai đoạn đầu của quá trình nhân bản. Chuột tiến hoá để sinh sản nhanh và trứng của chúng bắt đầu kích hoạt ngay khi rời buồng trứng. Điều đó có nghĩa là trứng chín quá nhanh nên các chuyên gia không có đủ thời gian để rút nhân. Họ buộc phải tìm ra kỹ thuật vượt qua trở ngại trên.

Để nhân bản chuột, các nhà nghiên cứu lấy trứng của một số cá thể chuột cái rồi cho trứng đó tiếp xúc với 1 loại protein. Protein có thể dừng quá trình kích hoạt của trứng để trứng không chín quá nhanh. Bằng cách đó, họ có thể rút DNA (nhân) của trứng và thay thế nó bằng DNA lấy từ một tế bào trưởng thành. Tế bào trưởng thành được chích từ phôi chuột. Kỹ thuật này được gọi là chuyển nhân tế bào xoma và đã được sử dụng để nhân bản cừu Dolly. Kết quả là họ thu được 129 phôi sống.

Việc nhân bản chuột không phải nhằm mục đích hoàn thiện kỹ thuật nhân bản người. Theo nhóm nghiên cứu, thành công này sẽ giúp giới khoa học dễ dàng tạo ra những con chuột bị mắc các căn bệnh giống như ở người, phục vụ quá trình nghiên cứu nhằm tìm ra phương pháp điều trị hiệu quả hơn, cụ thể là thử nghiệm thuốc và liệu pháp mới



Hình 29. Chuột nhân bản

Sau đó, phôi sống phân chia và được cấy vào tử cung của 2 con chuột cái (65 phôi vào một cá thể chuột và 64 phôi còn lại vào một con khác). Tuy nhiên, cũng như việc nhân bản các động vật khác, tỷ lệ thất bại

là rất cao. Hai bà mẹ sinh ra 3 chuột con. Một con chết ngay sau khi chào đời. Chuột con sống sót giống hệt tế bào trưởng thành về mặt di truyền. Kỹ thuật trên được lặp lại và tạo ra 2 chuột cái khỏe mạnh. Theo Fraichard, một thành viên của nhóm nghiên cứu, 4 con chuột nhân bản "phát triển bình thường và trưởng thành". Hai thế hệ chuột khỏe mạnh đã chào đời sau khi nhóm nghiên cứu cho 2 cặp chuột nhân bản đầu tiên giao phối với nhau.

Công nghệ nhân bản có thể mở rộng các chứng bệnh mà chuột có thể mắc phải giống như con người. Các chuyên gia đã coi thành công này là một bước tiến quan trọng trong nghiên cứu y học. Bước tiếp theo của nhóm là đưa một gen người vào chuột nhân bản và sử dụng chúng để nghiên cứu các liệu pháp điều trị bệnh liên quan tới gen. Gen đầu tiên sẽ liên quan tới một chứng rối loạn chuyển hoá di truyền ở người. Tuần trước, một nhà khoa học Mỹ tuyên bố sẽ nhân bản người vào cuối năm nay.

8.3.2.3 Hươu nhân bản

Con hươu trên được đặt tên là "Dewey". Nó chào đời vào tháng 5, năm 2004. Tuy nhiên, mãi cho tới hôm nay (23/12), nhóm nghiên cứu mới tuyên bố thành công do họ phải tiến hành phân tích DNA để khẳng định nó có gen giống hệt gen của con hươu cho tế bào.

Mark Westhusin, trưởng nhóm nghiên cứu thuộc Đại học Texas A and M, cho biết: "Dewey đang phát triển bình thường và dường như rất khỏe mạnh". Nó là con hươu đầu tiên được nhân bản thành công.

Hươu đuôi trắng là động vật lớn, sinh sống rất nhiều trên phạm vi rộng lớn ở Bắc Mỹ. Trước đây, nhóm nghiên cứu cũng đã nhân bản một con bò Angus kháng bệnh, bò Brahma, dê Boer, lợn và mèo. Với mỗi loài được nhân bản, nhóm hiểu thêm nhiều điều về công nghệ này và mục đích của học là làm cho hiệu quả hơn



Hình 30. Hươu nhân bản

Để tạo ra Dewey, các nhà khoa học đã trích da của một con hươu đực Nam Texas rồi tiêm DNA đó vào trứng đã được rút nhân của một con

hươu khác. Sau đó, họ cấy phôi vào tử cung của hươu cái. Theo Westhusin, ông đặc biệt quan tâm theo dõi sự phát triển của Dewey cũng như gạc của nó. Ông nói: "Sự phát triển của gạc hươu là độc nhất vô nhị".

8.3.2.4 Bò nhân bản

Các nhà khoa học Australia khẳng định họ là những người đầu tiên nhân bản bò theo một phương pháp mới, nhằm cho ra phôi khoẻ mạnh. Sản phẩm là Brandy, một con bê 2 tháng tuổi giống Holstein-Friesian chào đời hồi tháng 12 vừa qua.

Công trình do Viện Nghiên cứu Y học Monash ở Melbourne hợp tác với Cơ quan gen học Australia thực hiện. Trưởng nhóm Vanessa Hall cho biết đây là lần đầu tiên họ sử dụng kỹ thuật chuyển nhân chuỗi để nhân bản bò



Hình 31. Bò nhân bản

Các nhà khoa học trộn chất dinh dưỡng lấy từ một trứng mới thụ tinh vào một phôi nhân bản, trước khi đặt phôi này vào tử cung bà mẹ thay thế, nhờ đó thúc đẩy việc tái tổ chức DNA. "Bằng việc bổ sung thêm chất dinh dưỡng vào phôi nhân bản, chúng tôi đã cải thiện chất lượng của phôi".

Trong kỹ thuật nhân bản trước kia, các nhà khoa học cấy một tế bào đơn lẻ vào một trứng (đã bỏ DNA), và đưa phôi này vào tử cung bà mẹ thay thế để nó mang thai. Phương pháp đã được dùng trong việc nhân bản nhiều động vật, như cừu Dolly vào năm 1997, nhưng rất ít phôi cấy ghép sống sót qua thời kỳ thai nghén. Nguyên nhân của hiện tượng này có thể là do những trục trặc trong việc tái lập trình, ảnh hưởng đến sự phát triển của bào thai.

Nhóm nghiên cứu cho rằng kỹ thuật mới có thể thích hợp để nhân rộng các gen tốt trong bầy, cải thiện chất lượng sữa bò.

8.3.2.5 Ngựa nhân bản

Các nhà khoa học thuộc Phòng thí nghiệm công nghệ sinh sản tại Milan, Italia, đã thành công trong việc nhân bản con ngựa đầu tiên trên thế giới. Con ngựa cái tên gọi Prometea này chào đời cách đây 10 tuần và dường như hoàn toàn khoẻ mạnh.

Để tạo ra Prometea, các nhà khoa học đã sử dụng kỹ thuật chuyển hạt nhân, phương pháp dẫn tới sự ra đời của cừu Dolly - động vật có vú được nhân bản đầu tiên trên thế giới. Họ lấy tế bào da từ một con ngựa cái Ả-rập thuần chủng, trưởng thành, rồi kết hợp ADN của tế bào đó với trứng đã được rút nhân của một con ngựa khác. Tiếp đến, phôi được cấy trở lại tử cung của con ngựa Ả-rập sau khi được nuôi trong phòng thí nghiệm một vài ngày.

Trong số 841 phôi được tạo ra, chỉ có 8 phôi đực, 14 phôi cái phát triển tới giai đoạn "túi phôi" sơ khai nhất sau 7 ngày nuôi trong phòng thí nghiệm. 17 phôi được cấy vào tử cung của 9 con ngựa song chỉ có 4 ca mang thai. Prometea, chào đời sau 336 ngày, là ngựa con duy nhất còn sống sót.

Prometea nặng 36kg, được đặt tên theo Prometheus, nhân vật trong thần thoại Hy Lạp bị trừng phạt do ăn cắp lửa các các vị thần để tặng cho con người. Các cuộc kiểm tra ADN đã khẳng định Prometea có gene giống hệt mẹ của nó. Cesare Galli, trưởng nhóm nghiên cứu, nhận xét sự ra đời và tình trạng khỏe mạnh của Prometea làm họ ngạc



Hình 32. Ngựa nhân bản

Các động vật nhân bản trước đây, bao gồm cả cừu Dolly, nhận ADN từ một cá thể trưởng thành song lại được nuôi trong dạ con của động vật mang thai hộ, không có quan hệ gì với chúng (ADN được lấy từ động vật cần nhân bản rồi tiêm vào trứng đã được rút nhân của một cá thể cùng loài. Sau đó, phôi được cấy vào tử cung của động vật cho trứng - bà mẹ mang thai hộ). Điều đó có nghĩa là gene của động vật nhân bản hoàn toàn khác biệt với mẹ sinh ra chúng. Tuy nhiên, Prometea lại được nuôi trong tử cung của chính con ngựa đã cho nó ADN.

Thành công trên thách thức quan điểm rằng để một phôi thai sống sót, phôi đó cần được hệ miễn dịch của bà mẹ thừa nhận là khác biệt. Sự kiện này có ý nghĩa quan trọng bởi giờ đây giới khoa học đã nhân bản thêm một loài động vật nữa ngoài cừu, chuột, bò, dê, thỏ, mèo, lợn, và lừa.

Nhân bản ngựa rất khó khăn mặc dù các chuyên gia đã bỏ nhiều công sức nghiên cứu. Con la nhân bản có tên Idaho Gem chào đời đầu năm nay tại Mỹ, nhiều năm sau khi giới khoa học nhân bản thành công bò, dê và lợn. Galli cho biết, bằng kỹ thuật tạo Prometea, giới khoa học có thể nhân bản những con ngựa thiên đã đoạt giải vô địch trong các cuộc đua. Ông nói: "Mọi người quan tâm tới việc nhân bản những động vật này bởi chúng không thể sinh sản do đã bị thiên khi còn trẻ". Tuy vậy, các quy định hiện nay cấm ngựa nhân bản tham gia cuộc đua. Ngoài ra, không có gì đảm bảo rằng thể hệ ngựa nhân bản sẽ đoạt chức vô địch.

Sự kiện Prometea chào đời cũng làm dấy lên những lo ngại rằng phụ nữ có thể sinh ra bản sao giống hệt họ. Nếu kỹ thuật này thành công ở ngựa, nó cũng có thể hiệu quả ở người. Tuy nhiên, không nên lo lắng quá bởi nhân bản người là hành vi bất hợp pháp ở nhiều quốc gia.

8.3.2.6 Lợn nhân bản.

Công trình nghiên cứu của Trường Đại học Missouri và Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ cho thấy ở lợn choai được nhân bản (cloning) không có hệ miễn dịch tự nhiên để chống bệnh như ở lợn không cloning.

Các nhà khoa học đã cho 7 con lợn cloning (chúng được nhân bản tại Trường Đại học Missouri) tiếp xúc với một độc tố phát sinh tự nhiên (có tên là lipopolysaccharide) cùng lúc với 11 con lợn cùng nguồn gen nhưng không do cloning.

Những lợn không do cloning đáp ứng miễn dịch một cách đầy đủ, còn những lợn cloning không sản sinh đủ lượng protein tự nhiên (gọi là cytokine) để đề kháng sự lây nhiễm (con vật cần phải sản sinh đủ cytokine để sống còn vượt qua những lây nhiễm).



Hình 33. Lợn nhân bản

Những con lợn, bò cloning, có tỉ lệ chết lúc sơ sinh cao hơn so với những con vật không cloning, nhiều con chết vì nhiễm khuẩn.

Lúc mới sinh, cả những lợn cloning và không cloning, đều tiếp nhận khả năng phòng bệnh thông qua tiêu thụ sữa đầu, một vật chất tự nhiên trong sữa mẹ được truyền cho con con. Sữa đầu giúp cho con non phòng vệ cho đến khi hệ miễn dịch của bản thân nó bắt đầu hoạt động. Các nhà khoa học khuyến cáo rằng những con lợn cloning chỉ được dùng trong nghiên cứu và không dùng làm thực phẩm.

8.3.2.7 Mèo nhân bản đầu tiên trên thế giới

Một cô mèo nhà 2 tháng tuổi, ngộ nghĩnh, xinh xắn với biệt danh “Cc”, vừa chào đời ở Mỹ. Đây là thành công đầu tiên của một chương trình thí nghiệm nhằm giúp mọi người có được bản sao con vật yêu quý của họ. “*Cô bé* chào đời rất khỏe mạnh và dường như hoàn toàn bình thường”, nhà nghiên cứu Mark Westhusin và cộng sự ở ĐH Texas A&M cho biết. Mèo ta đã làm dài thêm danh sách những động vật được nhân bản từ các tế bào trưởng thành, bắt đầu với cừu Dolly, và nay là lợn, dê, bò, chuột và một sinh vật giống bò - con ming.



Hình 34. Mèo nhân bản.

Các nhà khoa học đã tạo ra Cc bằng cách cấy ADN từ một con mèo tam thể cái vào một tế bào trứng đã bỏ nhân. Sau đó, họ cấy phôi này vào tử cung một con



mèo mướp thay thế. Cc ra đời với màu lông đích thị là một sản phẩm nhân bản. Nó trông gần giống bà mẹ di truyền (bà mẹ thực), nhưng lại rất khác với con mèo mướp đã sinh ra nó (mẹ thay thế). Các nhà khoa học cho rằng, nguyên nhân của hiện tượng này là vì màu lông không chỉ do các yếu tố gene quy định, mà còn ảnh hưởng bởi điều kiện trong tử cung. Trong số 87 phôi nhân bản được cấy ghép, Cc là con duy nhất sống sót.

Con mèo bên trái là bà mẹ di truyền (cho nhân). Bên phải là Cc và mẹ thay thế của nó.

8.3.2.7 Chó nhân bản.



Hình 35. Chó nhân bản.

Các nhà khoa học Hàn Quốc vừa tạo ra những con chó nhân bản đầu tiên. Một trong số đó đã chết sau khi sinh, nhưng một con chó săn Afghan vẫn đang khỏe mạnh sau 16 ngày.

Chú cún con Snuppy đã gia nhập danh sách những động vật nhân bản trên toàn thế giới, bao gồm cừu Dolly, mèo CC và chuột Ralph. Các nhà khoa học hy vọng việc nhân bản chó sẽ giúp họ tìm ra cách điều trị một số căn bệnh nguy hiểm ở người.

"Chó có nhiều tính cách giống con người", nhà nghiên cứu đứng đầu Woo Suk Hwang tại Đại học Quốc gia Seoul, phát biểu. "Một số bệnh của

chúng hầu như tương tự chúng ta. Vì vậy nhân bản chó thành công sẽ giúp ích rất nhiều trong việc tìm ra phương pháp chữa bệnh cho người. Đây chính là mục tiêu nghiên cứu chính của chúng tôi".

Snuppy được tạo ra từ tế bào tai của một con chó săn đực 3 tuổi. Các nhà khoa học lấy chất liệu gene từ tế bào tai và đặt nó vào một tế bào trứng rỗng. Trứng này sẽ được kích thích để phân chia và phát triển thành một phôi thai. Khi đó, nó sẽ được đưa vào cơ thể con mẹ, một con chó tha mồi lông vàng. Chú chó Afghan được sinh ra sau 60 ngày nằm trong bụng mẹ.

Nhiều loài động vật khác đã được nhân bản thành công, nhưng việc nhân bản chó vô cùng khó khăn. Nhóm Hàn Quốc mới chỉ giữ được 3 bào thai trong số hơn 1.000 phôi thai chuyển sang 123 bà mẹ thay thế. Trong số đó, một bị sảy thai, một chết sau khi sinh, chỉ Snuppy là còn sống sót.

Con chó lông xù, cũng như những con vật nhân bản khác, đang tạo ra nhiều mối lo ngại về vấn đề đạo đức trên toàn cầu.

Câu hỏi ôn tập chương 2

1. Thế nào là nhiễm sắc thể? Hãy nêu cấu trúc của nhiễm sắc thể? Thế nào là thể lưỡng bội, đơn bội? Thế nào là kiểu nhân, nhân đồ?
2. Thế nào là chu kỳ tế bào?
3. Hãy trình bày quá trình phân chia nguyên nhiễm ở tế bào động vật? Ý nghĩa của phân chia nguyên nhiễm?
4. Hãy trình bày quá trình phân chia giảm nhiễm? Ý nghĩa của phân chia giảm nhiễm?
5. Hãy cho biết những điểm giống nhau và khác nhau giữa phân chia nguyên nhiễm và phân chia giảm nhiễm?
6. Hãy cho biết quá trình hình thành giao tử ở động vật?
7. Tại sao có hiện tượng liên kết gen?
8. Hãy trình bày thí nghiệm của Morgan ở ruồi dấm về liên kết hoàn toàn và không hoàn toàn?
9. Thế nào là hiện tượng tái tổ hợp? Nguyên nhân dẫn đến tái tổ hợp gen?
10. Người ta sử dụng tần số tái tổ hợp để làm gì? Tại sao?
11. Thế nào là đột biến nhiễm sắc thể? Hãy nêu các trường hợp đột biến về cấu trúc và số lượng nhiễm sắc thể?
12. Nguyên nhân dẫn đến các đột biến về số lượng nhiễm sắc thể?
13. Thế nào là nhiễm sắc thể giới tính? Hãy nêu các đặc điểm về giới tính? Sự hình thành giới tính và phân ly giới tính ở động vật?
14. Thế nào là di truyền liên kết với giới tính? Trình bày các hiện tượng di truyền liên kết với giới tính về màu mắt ở ruồi dấm? Di truyền liên kết với giới tính về màu sắc lông gà, máu không đông ở người?
15. Ứng dụng di truyền liên kết với giới tính trong thực tiễn chăn nuôi?
16. Hãy nêu một số phương pháp điều khiển hình thành giới tính ở động vật?
17. Hãy cho biết thế nào là tính trạng bị ảnh hưởng bởi giới tính và bị hạn chế bởi giới tính? Cho ví dụ?
18. Nguyên tắc lập bản đồ gen động vật? Hãy cho biết một số nghiên cứu bản đồ gen ở vật nuôi?

Chương 3

DI TRUYỀN PHÂN TỬ VÀ KỸ THUẬT DI TRUYỀN ỨNG DỤNG TRONG NHÂN GIỐNG ĐỘNG VẬT

Đến những năm 1940, di truyền học cổ điển được gọi là “di truyền học hình thức” vì chỉ căn cứ vào kết quả lai hay quan sát tế bào học mà suy đoán về gen. Gen có bản chất như thế nào? Nó thực hiện chức năng sinh hóa ra sao? Đó là những vấn đề con bỏ ngõ.

Năm 1941, G. Beadle và E. Tatum nghiên cứu các đột biến sinh hóa ở nấm mốc *Neurospora crassa* và nêu lên giả thuyết 1 gen - 1 men - tính trạng, cho thấy, gen xác định tính trạng thông qua việc điều khiển tổng hợp các enzym, chất xúc tác các phản ứng sinh hóa. Tiếp theo, các đối tượng vi sinh vật bắt đầu được sử dụng rộng rãi đã tạo một bước phát triển mới trong nghiên cứu di truyền..

Vào những năm 40, J. Lederberg, với các công trình của mình đã góp phần đưa một vi khuẩn trở thành đối tượng được sử dụng nhiều nhất trong sinh học phân tử, đó là vi khuẩn *E. coli*.

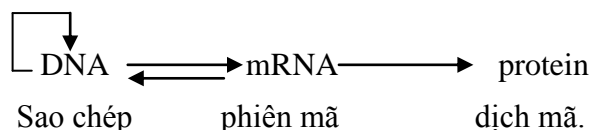
Nhiều nhà vật lý, hóa học chuyển sang nghiên cứu di truyền học đã ứng dụng các phương pháp mới trong nghiên cứu sinh học.

Việc xác định DNA chính là vật chất di truyền đã mở màn cho các nghiên cứu phân tử về cấu tạo và chức năng của gen. Năm 1944, Oswald Avery, Colin McLeod và Maclyn McCarty nghiên cứu *Streptococcus pneumoniae*, một vi khuẩn gây viêm phổi, dựa vào các quan sát trước của Fred Griffiths đã phát hiện ra hiện tượng biến nạp và đã chứng minh DNA là nhân tố gây biến nạp, làm thay đổi kiểu di truyền ở phế cầu khuẩn *D. pneumoniae*. Alfred Hershey và Martha Chase (1952) củng cố thêm kết luận trên bằng các thực nghiệm trên thực khuẩn thể (bacteriophage), đó là các virus có khả năng xâm nhiễm vi khuẩn *E. coli*.

Sự phát hiện cấu trúc chuỗi xoắn kép DNA của James D. Watson và Francis H.C. Crick (1953) chính thức khởi đầu cho thời kỳ nghiên cứu di truyền phân tử. Cấu trúc đơn giản và trình tự bổ sung của phân tử DNA

là cơ sở cho cơ chế tự sao chép của phân tử DNA ở mỗi thể hệ tế bào cũng như cơ chế tổng hợp RNA từ khuôn DNA.

Học thuyết trung tâm của sinh học phân tử ra đời.



Vào cuối những năm 70, sự xuất hiện một loạt kỹ thuật mới đã tạo ra cuộc cách mạng trong sinh học phân tử. Với các enzym cắt hạn chế, người ta có thể cắt phân tử DNA ở những vị trí xác định thành những đoạn có kích thước mong muốn, gắn chúng vào các vector, rồi chuyển vào tế bào vi khuẩn. Việc nuôi cấy các tế bào vi khuẩn này cho phép thu hồi lại một lượng lớn DNA cần. Đó là phương pháp tạo dòng. Sau đó, người ta đã hoàn thiện các phương pháp xác định nhanh trình tự DNA. Như vậy các nhà sinh học bây giờ không chỉ ngồi đếm nhiễm sắc thể hay thiết lập bản đồ gen dựa vào đột biến và lai, họ nắm đến từng nucleotit của đoạn DNA. Hơn thế nữa, họ còn có thể tùy ý tạo các đột biến trên đoạn DNA rồi chuyển chúng trở vào tế bào để nghiên cứu chức năng của một gen trên một loại tế bào xác định, xác định trình tự toàn bộ gen người, giải quyết vấn đề bệnh ung thư, sự phát triển phôi, biệt hóa mô...

1. DNA và vai trò của nó trong di truyền.

Vào năm 1868, Miescher, nhà sinh hóa học người Thụy Điển, phát hiện trong nhân tế bào bạch cầu một chất không phải protein và ông gọi là nuclein (chất nhân). Về sau thấy chất này có tính axit nên gọi là nucleic axit. Có hai loại là desoxyribonucleic axit (viết tắt là DNA) và ribonucleic axit (viết tắt là RNA). Chất mà Miescher tìm ra là DNA. Năm 1914, nhà bác học Đức R. Fulgen đã tìm ra phương pháp nhuộm màu DNA. Năm 1944, vai trò mang thông tin di truyền của DNA mới được chứng minh và đến năm 1952 mới được công nhận.

1.1. Chứng minh gián tiếp.

Nhiều số liệu cho thấy có sự liên quan chặt chẽ giữa DNA và vật chất di truyền.

Thứ nhất, DNA có trong tế bào của tất cả các sinh vật, chỉ giới hạn trong nhân và là thành phần chủ yếu của nhiễm sắc thể (một cấu trúc của tế bào, có chứa nhiều gen).

Thứ hai, Tất cả các tế bào sinh dưỡng của bất kỳ một loại sinh vật nào đều chứa một lượng DNA rất ổn định, không phụ thuộc vào sự phân hóa chức năng hay trạng thái trao đổi chất.

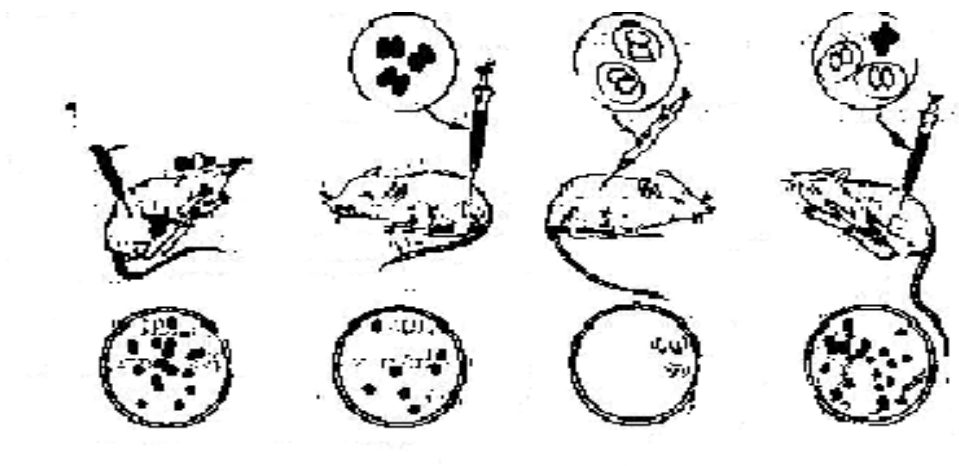
Thứ ba, số lượng DNA tăng theo bội số nhiễm sắc thể trong tế bào. Ở tế bào sinh dục, đơn bội (n) có số lượng DNA là 1 thì ở tế bào sinh dưỡng, lưỡng bội ($2n$) có số lượng DNA tăng lên gấp đôi.

Thứ tư, tia tử ngoại (uv) có hiệu quả gây đột biến cao nhất ở bước sóng 260 nm, đây chính là bước sóng mà DNA hấp thụ tia tử ngoại nhiều nhất.

1.2 Bằng chứng trực tiếp chứng minh axit nucleic là vật liệu di truyền.

1.2.1 Hiện tượng biến nạp.

Thí nghiệm của Griffiths, 1928 trên phé cầu khuẩn *Diplococcus pneumoniae* gây bệnh viêm phổi cho động vật có vú.



Hình 36. Thí nghiệm biến nạp ở chuột

a/ Tiêm vi khuẩn S sống gây bệnh cho chuột → chuột chết

b/ Tiêm vi khuẩn R sống không gây bệnh → chuột sống

c/ Tiêm vi khuẩn S đã nung nóng cho chuột → chuột sống

d/ Hỗn hợp vi khuẩn S bị đun chết trộn với vi khuẩn R sống đem tiêm cho chuột → chuột chết. Trong xác chuột có vi khuẩn S và R.

D. pneumoniae có 2 nòi: nòi S có vỏ bọc và 1 phân tử DNA, khi nuôi cấy cho khuẩn lạc trơn, bóng, có khả năng gây bệnh.

Nòi R: không có vỏ bọc, có 1 phân tử DNA, khi nuôi cấy cho khuẩn lạc không trơn, bóng, không có khả năng gây bệnh.

Tiêm nòi S cho chuột, chuột sẽ chết. Tiêm nòi R cho chuột, chuột vẫn sống. Nung nóng nòi S và tiêm cho chuột, chuột vẫn sống. Trộn lẫn nòi S đã nung nóng với nòi R, tiêm cho chuột, chuột chết. Ở đây đã có yếu tố nào đó từ nòi S đã bị giết chết chuyển sang nòi R (không gây bệnh) làm thay đổi đặc điểm của nòi R. Khi chuyển sang nòi R, làm cho nòi R từ chỗ không gây bệnh trở nên gây bệnh.

Năm 1944, T. Avery, McLeod và McCarty đã tách chiết DNA của nòi S đem cho vào các tế bào nuôi cấy chủng R. Kết quả là một số khuẩn lạc biến thành dạng trơn, bóng: chúng đã được biến nạp. Đặc biệt khi phân hủy DNA bằng DNase thì hiện tượng biến nạp không xảy ra. Các tác giả đã chứng minh được rằng DNA chính là nhân tố biến nạp làm thay đổi các kiểu di truyền ở phé cầu khuẩn.

Ngày nay có thể thực hiện được biến nạp ở sinh vật Eucaryotae như nấm men, tế bào thực vật, tế bào chuột và cả ở tế bào người, thậm chí có thể thực hiện biến nạp ở các loài khác nhau. Do đó, biến nạp có thể được coi là phương tiện chung để chuyển gen giữa các sinh vật.

1.2.2 Sự xâm nhập của DNA virus vào vi khuẩn.

Năm 1952, A. Hershey và M. Chase đã tiến hành thí nghiệm với bacteriophage T₂ (thực khuẩn thể) cho xâm nhập vi khuẩn *Escherichia coli* (E. coli).

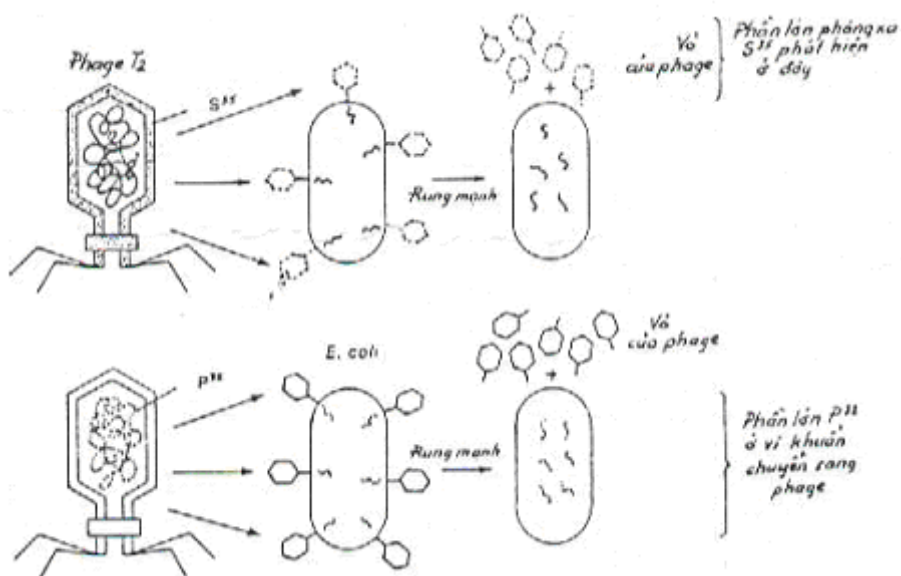
Phage T₂ có cấu tạo đơn giản gồm vỏ protein và phân tử DNA bên trong. Khi cho phage T₂ vào vi khuẩn, chúng gắn lên bề mặt bên ngoài, một phần chất nào đó đã xâm nhập vào trong vi khuẩn và sau 20 phút làm tan tế bào vi khuẩn, phóng thích nhiều phage mới.

Thí nghiệm của A. Hershey và M. Chase nhằm xác định, chất nào của phage đã vào bên trong tế bào vi khuẩn: DNA, protein hay cả hai chất trên.

Vì DNA chứa nhiều photpho (P) nhưng không có lưu huỳnh (S) còn protein chứa nhiều lưu huỳnh nhưng không có photpho, nên có thể phân biệt DNA và protein nhờ các đồng vị phóng xạ P và S.

Phage được nuôi trên vi khuẩn đã nhiễm đồng vị phóng xạ P³² và S³⁵. Các phage nhiễm trong khoảng thời gian đủ để bám vào vách tế bào và bơm chất nào đó vào trong tế bào. Sau đó đem phân tích nhận thấy,

phần ngoài vi khuẩn có chứa nhiều S^{35} , nhưng rất ít P^{32} , chứng tỏ phần lớn protein vỏ phage nằm ngoài tế bào vi khuẩn. Phân tích phần bên trong tế bào vi khuẩn thấy chúng chứa nhiều P^{32} nhưng rất ít S^{35} .



Hình 37. Vật chất di truyền của phage là DNA

Điều này chứng tỏ DNA của phage đã được bơm vào trong tế bào vi khuẩn, ở đó thông tin di truyền chứa trong DNA sẽ được dùng để tổng hợp những virus mới.

2 Thành phần hóa học và cấu trúc phân tử DNA

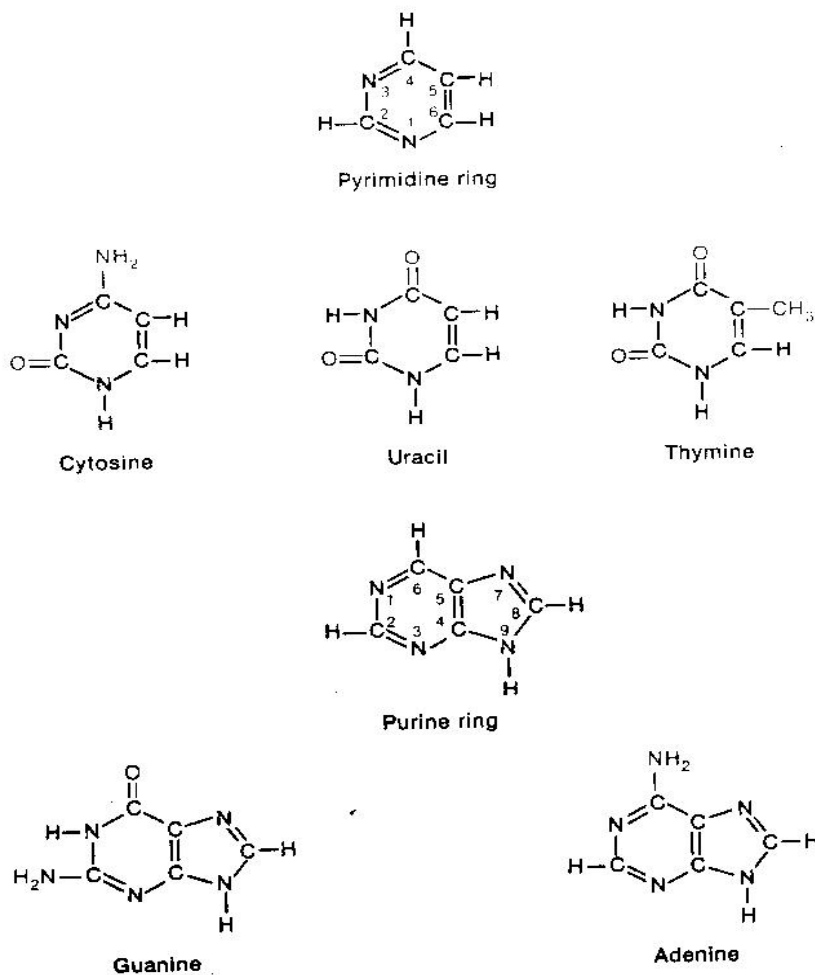
2.1. Thành phần hóa học.

Phân tử DNA là một chất trùng hợp (polymer), polynucleotit. Nó được tạo nên do sự nối liền các đơn phân (monomer).

Mỗi monomer gồm 3 thành phần:

- Đường pentose (5 carbon) - desoxyribose
- Base nitơ gồm 2 nhóm purine: Adenine (A) và Guanine (G) và pyrimidine : Thymin (T) và Cytosine (C).
- Nhóm phosphate.

Đường pentose gắn với base nitơ ở vị trí C_1 sẽ tạo nên nucleoside. Nucleoside được gắn thêm nhóm phosphate vào C_5 của đường pentose thành nucleotid.

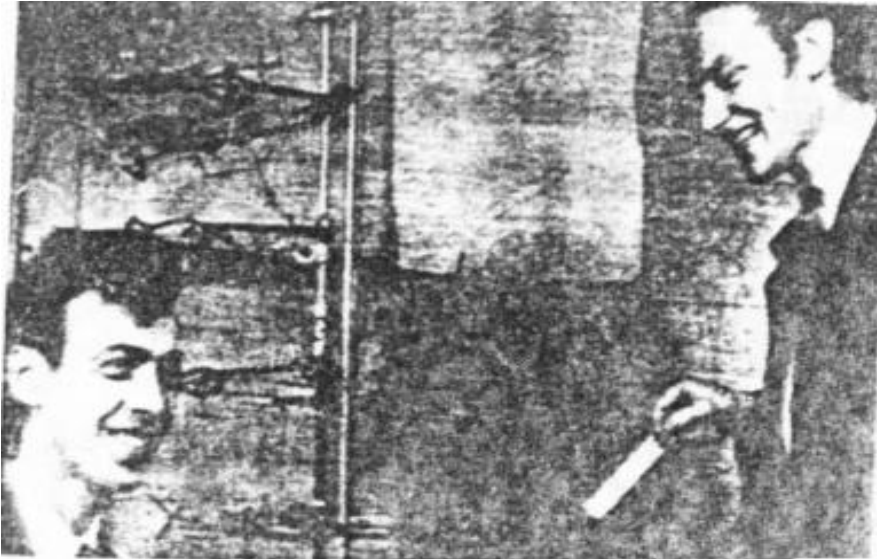


Hình 38. Cấu tạo các base nitơ

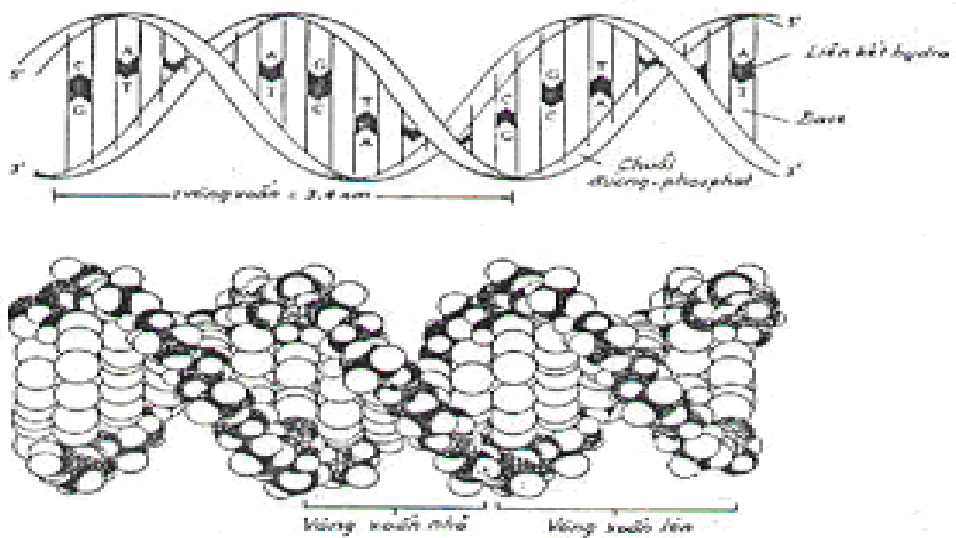
2.2. Mô hình xoắn kép DNA của J. Watson và F. Crick.

Năm 1953, J. Watson và F. Crick đã đưa ra mô hình cấu trúc phân tử DNA. Theo mô hình này, phân tử DNA là một chuỗi xoắn kép mà hai mạch gồm khung đường pentose xen kẽ với các nhóm phosphate, được gắn với nhau nhờ các cầu nối hydro (liên kết hydro) theo nguyên tắc bổ

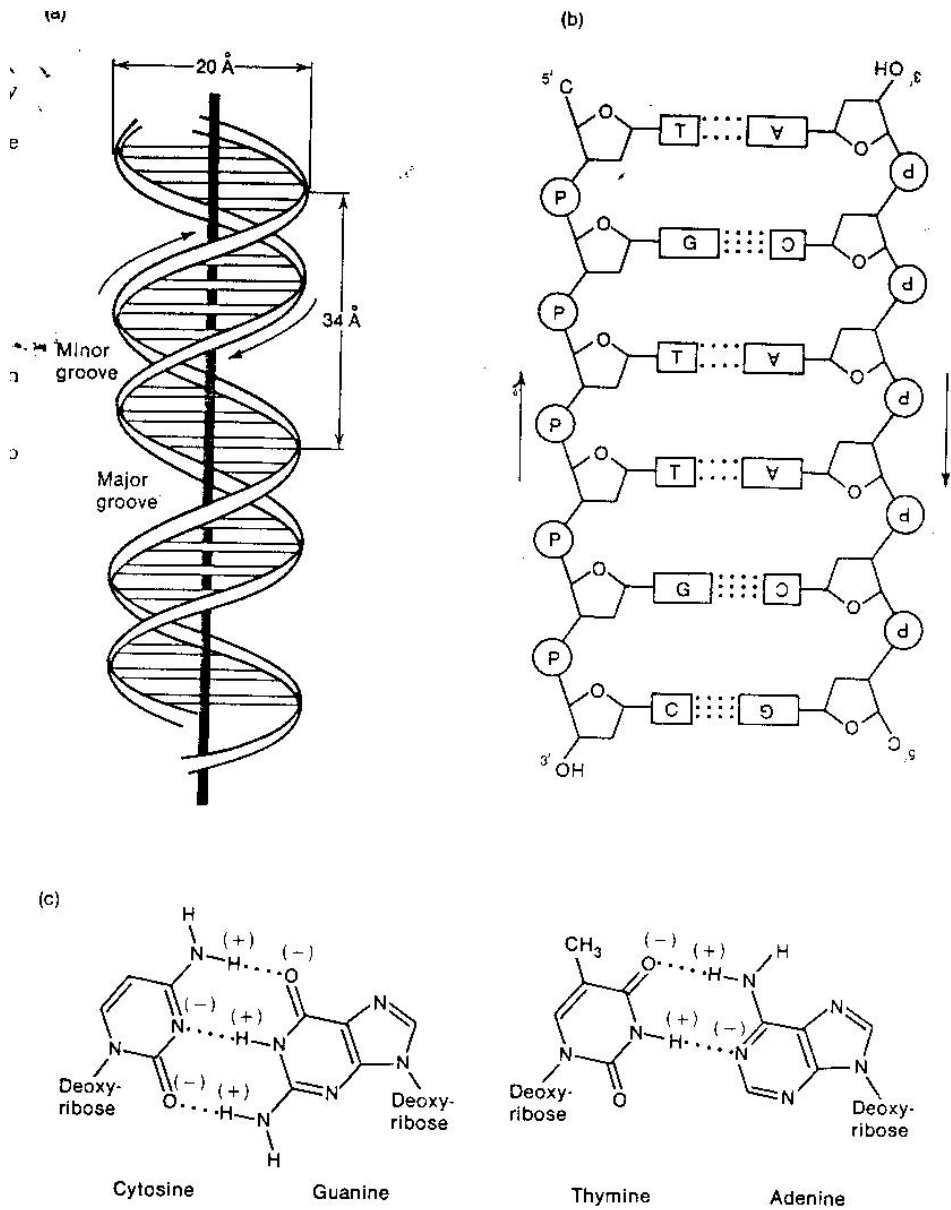
sung. Có nghĩa là adenine của mạch này sẽ liên kết với thymine của mạch kia, guanine của mạch này liên kết với cytosine của mạch kia và ngược lại. Giữa adenine với thymine liên kết với nhau bằng 2 cầu nối hydro, còn giữa guanine với cytosine liên kết với nhau bằng 3 cầu nối hydro.



J. Watson và F. Crick



Hình 39. Chuỗi xoắn kép DNA của Watson - Crick



Hình 40. Sơ đồ cấu trúc 2 mạch của phân tử DNA theo Watson-Crick

Điều này đã được các thực nghiệm của Chargaff xác định. Khi thủy phân DNA nhận thấy, tổng số các loại base purine bằng tổng số các loại pyrimidine. Đặc điểm này được gọi là định luật Chargaff. Theo định

luật này thì $A = T$; $G = C$, tức là $\frac{A}{T} = \frac{G}{C} = 1$; $\frac{A + G}{T + C} = 1$, nhưng tỷ số

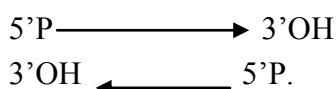
$\frac{A + T}{G + C} \neq 1$, ở các loài sinh vật khác nhau, tỷ số này đặc trưng cho loài,

dựa vào đó có thể phân biệt các loài với nhau. Sinh vật bậc cao, tỷ số $\frac{A + T}{G + C} > 1$, sinh vật bậc thấp, tỷ số $\frac{A + T}{G + C} < 1$. Từ năm 1953 trở lại

nay, mô hình phân tử DNA của J. Watson và F. Crick là trung tâm của các nghiên cứu di truyền học và sinh học phân tử, Watson và Crick đã nhận giải thưởng Nobel vào năm 1962.

Mỗi vòng xoắn của phân tử DNA gồm có 10 cặp nucleotid, chiều dài là 34 \AA ; đường kính của phân tử DNA là 20 \AA .

Sự sắp xếp của 2 mạch theo kiểu đối song song, đầu $5'P$ (nhóm P tự do gắn với C_5 của đường) đối diện với $3'OH$ (nhóm OH gắn với C_3 của đường) và ngược lại.



3. Sao chép DNA

Watson và Crick đã cho rằng, nếu hai mạch của phân tử DNA được tách ra do các liên kết hydro giữa các cặp base bị đứt, mỗi mạch sẽ làm khuôn cho việc tổng hợp mạch mới, tương tự với mạch cặp trước đó.

Kết quả một phân tử DNA ban đầu (mẹ) qua quá trình sao chép sẽ cho ra hai phân tử DNA (con) giống hệt nhau. Mỗi phân tử con đều mang một mạch cũ và một mạch mới. Kiểu sao chép này gọi là sao chép bán bảo tồn.

Những nghiên cứu tiếp theo đã tìm ra các cơ chế phân tử của quá trình sao chép DNA. Đó là quá trình rất phức tạp, phải trải qua các cơ chế chung như sau:

- Các liên kết hydro gắn hai mạch với nhau phải bị phá vỡ và hai mạch phải tách nhau ra, từ mạch kép trở thành hai mạch đơn.

- Phải có đoạn mồi, tức là đoạn DNA hoặc RNA ngắn, bắt cặp bổ sung với 1 đầu của mạch khuôn.

- Có đủ 4 loại nucleosid triphosphate (ATP, TTP, GTP, CTP) bắt cặp với mạch đơn khuôn.

- Mạch mới tổng hợp theo hướng 5'P - 3'OH, các nucleotid mới được nối lại với nhau bằng liên kết phosphodieste.

Mỗi bước được điều khiển bởi enzym đặc hiệu và được thực hiện một cách nhanh chóng, chính xác.

3.1 Các enzym, protein tham gia vào quá trình tái bản DNA

- DNA polymerase I là loại enzym được phát hiện đầu tiên, lúc đầu người ta cho rằng đây là loại enzym có vai trò chủ yếu trong tái bản DNA. Về sau người ta còn phát hiện được các enzym DNA polymerase II và DNA polymerase III.

- DNA polymerase II có chức năng xác định sự bắt đầu tổng hợp một phân đoạn mới DNA và kết thúc sự tổng hợp DNA.

- DNA polymerase III là enzym tham gia chủ yếu vào tái bản DNA kéo dài dần chuỗi mới tổng hợp. Loại enzym này có khoảng 10 phân tử trong một tế bào, chúng có tốc độ tổng hợp DNA nhanh hơn nhiều lần so với DNA polymerase I và DNA polymerase II.

- Trên mỗi phân tử DNA dạng vòng ở vi khuẩn *E. coli* có khoảng 400.000 vòng xoắn, nên sự tháo xoắn phải xảy ra theo một cơ chế tối ưu nào đó để khi tháo xoắn không làm rối loạn cấu trúc của nó. Sự tháo xoắn được tạo ra do đứt tại một điểm nhất định trên một mạch đơn trong quá trình tái bản, các chỗ đứt này sẽ nhanh chóng được sửa chữa sau khi tháo xoắn. Enzym tham gia vào sửa chữa này là DNA gyrase (hay topoisomerase).

- Ngoài ra còn có các enzym khác như: Enzym “rep” mở xoắn chuỗi xoắn kép, RNA primerase tổng hợp đoạn mồi RNA ngắn để tạo nhóm 3'OH, enzym DNA ligase nối các đoạn DNA ngắn (đoạn Okazaki) thành phân tử DNA dài. Bên cạnh đó, trong quá trình tổng hợp DNA còn thấy có vai trò protein DNA-B nhận ra và đánh dấu điểm khởi đầu tái bản, protein SSB bám vào hai mạch đơn ổn định để thực hiện quá trình tái bản DNA.

3.2 Các giai đoạn sao chép.

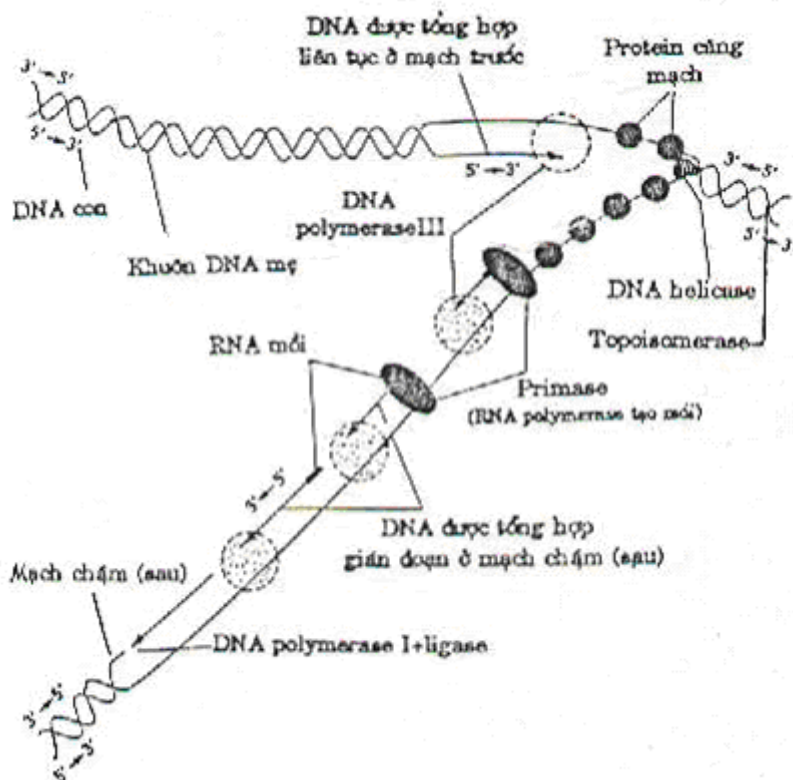
3.2.1 Khởi sự.

Ở *E. coli*, quá trình sao chép bắt đầu khi một protein đặc hiệu (B) nhận biết điểm bắt đầu sao chép và gắn vào trình tự base đó. Tiếp theo

enzym gyrase nới lỏng vòng xoắn DNA ở 2 phía của protein B và tách xa vị trí ban đầu tạo ra 2 phễu tái bản, trên mỗi phễu tái bản có 3 chạc, gọi là dạng chữ Y. Hai phân tử enzym “rep” tháo xoắn chuỗi xoắn kép DNA để bề gãy dần các liên kết hydro trên mạch kép DNA. Vì vậy hai mạch đơn lần lượt tách nhau ra. Quá trình này cần dùng năng lượng ATP. Các protein làm căng mạch (SSB-Single Strand Binding), gắn với mạch đơn DNA làm chúng tách nhau, ngăn cho hai mạch không chập lại với nhau để tạo thuận lợi cho sao chép.

3.2.2 Nối dài phân tử DNA.

Sự khởi đầu tái bản DNA đòi hỏi có một yếu tố mồi (primer). Yếu tố này giữ chức năng khởi động. Enzym DNA polymerase III chỉ có khả năng xúc tác việc hình thành mạch đơn mới DNA theo hướng 5’-3’, vì vậy việc lắp ráp các nucleotit vào sợi khuôn bao giờ cũng bắt đầu từ chiều 3’ của sợi khuôn.



Hình 41. Sao chép DNA ở vi khuẩn E. coli

Nghĩa là sự kéo dài (elongation) được thực hiện do gắn thêm nucleotit vào đầu có OH của cacbon 3' tự do. Để tạo ra nhóm 3'OH, enzym primase bám vào đầu 3' của mạch gốc tổng hợp nên đoạn mồi ngắn khoảng 8-10 ribonucleotit. Như vậy, enzym primase làm nhiệm vụ khởi động để sau đó enzym DNA polymerase III xúc tác tạo thành liên kết photphodiester giữa nhóm 3'OH tự do của đoạn mồi và nguyên tử photpho phía trong cùng của nucleotit triphosphat đang gắn vào đoạn mồi. Sự nhận biết của nucleotit triphosphat được gắn vào đoạn mồi phụ thuộc vào sự kiên kết đôi base bổ sung của môi trường nội bào với nucleotit đối diện trong mạch khuôn. DNA polymerase III xúc tác phản ứng trùng hợp hóa, liên kết nucleotit mới vào đầu đoạn mồi.

Mạch khuôn có chiều 3'OH - 5'P được DNA-polymerase gắn vào và tổng hợp ngay mạch bổ sung theo chiều 5'P - 3'OH. Mạch này được gọi là mạch trước (mạch sớm), quá trình sao chéo được thực hiện liên tục, từ ngoài vào trong, hướng vào chẻ ba sao chép.

Trong khi đó mạch khuôn theo hướng 5'P-3'OH, việc tổng hợp có phức tạp hơn và thực hiện từ chẻ ba sao chép ra ngoài, mạch này được hoàn thiện muộn hơn được gọi là mạch sau hay mạch muộn.

Việc tổng hợp mạch đơn DNA mới trên mạch gốc 5'-3' theo chiều ngược và tạo ra những đoạn ngắn, gọi là đoạn Okazaki. Theo Okazaki mỗi đoạn có từ 1000 đến 2000 nucleotit. Trước khi tổng hợp, mỗi phân đoạn Okazaki cũng tổng hợp đoạn mồi RNA để tạo nhóm 3'OH để sau đó nhờ tác dụng của enzym DNA polymerase III kéo dài tiếp chuỗi polydeoxyribonucleotid. Các nucleotit được gắn vào đầu 3'OH của đoạn mồi để kéo dài ra theo chiều 5'-3' tạo ra đoạn Okazaki. Sau khi đoạn Okazaki tiếp theo được hình thành thì enzym DNA polymerase I vào thay thế vị trí DNA polymerase III, phân hủy đoạn mồi RNA và tổng hợp đoạn DNA bổ sung theo hướng 5'-3'. Giữa hai đoạn Okazaki lúc này có một khoảng trống, khoảng này sẽ được lấp đầy do enzym DNA ligase hình thành thêm liên kết photphodiester, cứ như vậy các đoạn Okazaki lần lượt được nối lại với nhau, kéo dài dần sợi DNA tổng hợp.

3.2 Sao chép ở tế bào eucaryotae.

Sự sao chép ở tế bào nhân chuẩn eucaryotae còn chưa được hiểu tường tận nhưng các dữ liệu thu được cho thấy hệ thống này khá gần với hệ thống sao chép ở procaryotae. Khác biệt chủ yếu là ở các loại DNA-polymerase tham gia vào quá trình. Ngoài các DNA-polymerase, hệ thống sao chép ở eucaryotae còn có sự tham gia của nhiều protein chuyên biệt

như: PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen-kháng nguyên trong nhân tế bào đang phân chia) có chức năng hoạt hóa các polymerase ϵ và δ , các nhân tố sao chép A và C (Replication Factor, RF-A, RF-C) cần cho hoạt động của các polymerase α và δ .

Mô hình sao chép ở eucaryotae được đề xuất như sau:

- Đầu tiên, DNA được tháo xoắn nhờ một loại enzym tham gia vào tháo xoắn phân tử DNA và nhân tố sao chép A (RF-A).

- Trên mạch chậm, polymerase α /primase tương tác với RF-A tổng hợp mỗi RNA (dài độ 10 nucleotid). Mỗi này được nối dài thêm độ 20 nucleotid nhờ polymerase α kết hợp với nhân tố sao chép RF-C. Lúc đó, sự phối hợp PCNA-ATP chặn polymerase α lại, giúp cho polymerase δ gắn vào và tổng hợp đoạn Okazaki.

- Polymerase α được giải phóng và được chuyển lên mạch đối diện, tổng hợp liên tục mạch mới.

Nhiều nghiên cứu sử dụng phân tử đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ cho thấy các phân tử DNA ngay sau khi được sao chép sẽ được tổ chức lại thành nucleosome. Các nucleosome mới hình thành chỉ chứa các histon mới tổng hợp.

Tuy nhiên điều chưa rõ là các nucleosome mới hình thành nằm hoàn toàn trên một mạch và các nucleosome cũ trên mạch kia hay có sự phân bố ngẫu nhiên trên cả hai mạch.

4. RNA và sự phiên mã (sinh tổng hợp RNA)

4.1. Thành phần hóa học của phân tử RNA.

Phân tử RNA (Ribonucleic acid) được cấu tạo từ 3 thành phần:

- Đường pentose (đường 5C), ở đây là đường ribose.
- Base nitơ, gồm 2 nhóm: purine (adenine (A) và Guanine (G) và pyrimidine cytosine (C) và uracyl (U).
- Nhóm phosphate (P).

Các thành phần trên liên kết với nhau (base nitơ liên kết với đường ở C_1 và nhóm phosphate liên kết với đường ở C_5) tạo thành ribonucleic.

Các monoribonucleic liên kết với nhau bằng liên kết phosphodiester thành chuỗi polyribonucleic.

Phân tử RNA là một chuỗi (1 mạch) polyribonucleotid.

4.2 Sự phiên mã (sinh tổng hợp RNA)

Mặc dù bản chất hóa học của hai loại quá trình: sinh tổng hợp DNA và RNA rất giống nhau nhưng chúng lại mang những ý nghĩa sinh học chuyên biệt. Quá trình sinh tổng hợp DNA (sự sao chép) có tính ổn định cao, đảm bảo sự truyền đạt nguyên vẹn bộ gen; trong khi đó sự sinh tổng hợp RNA (sự phiên mã) lại liên quan đến tính đa dạng và biến động trong sự biểu hiện các tính trạng di truyền. Phần lớn sự biểu hiện của gen được kiểm tra và điều hòa ở mức độ phiên mã và mọi giai đoạn của quá trình phiên mã đều có thể chịu sự biến đổi. Các nguyên tắc cơ bản của quá trình này đã được thiết lập dựa vào nghiên cứu trên procaryotae (*E. coli*) nhưng dường như các nguyên tắc này có tính phổ biến cho cả eucaryotae. Tuy nhiên, do những khác biệt về cấu trúc (bộ gen ở eucaryotae được bao bọc trong nhân, trong khi ở procaryotae bộ gen nằm tự do trong tế bào chất) và do những khác biệt về hệ enzyme nên sự phiên mã ở procaryotae và eucaryotae cũng có những sai khác nhất định.

4.2.1 Các giai đoạn của quá trình phiên mã.

4.2.1.1 Vai trò của RNA polymerase.

Enzym RNA polymerase được nghiên cứu chứa hai hợp phần chính đó là yếu tố sigma (δ) và lõi enzym chứa hai chuỗi anfa(α) và beta (β). Yếu tố sigma có vai trò quan trọng giúp cho enzym lõi nhận biết và bám vào vùng gen khởi động để bắt đầu phiên mã tại vị trí chính xác. Sau đó chúng rời enzym lõi để tham gia vào một quá trình phiên mã khác. Enzym lõi đóng vai trò chủ chốt trong việc trùng hợp và kéo dài sợi RNA.

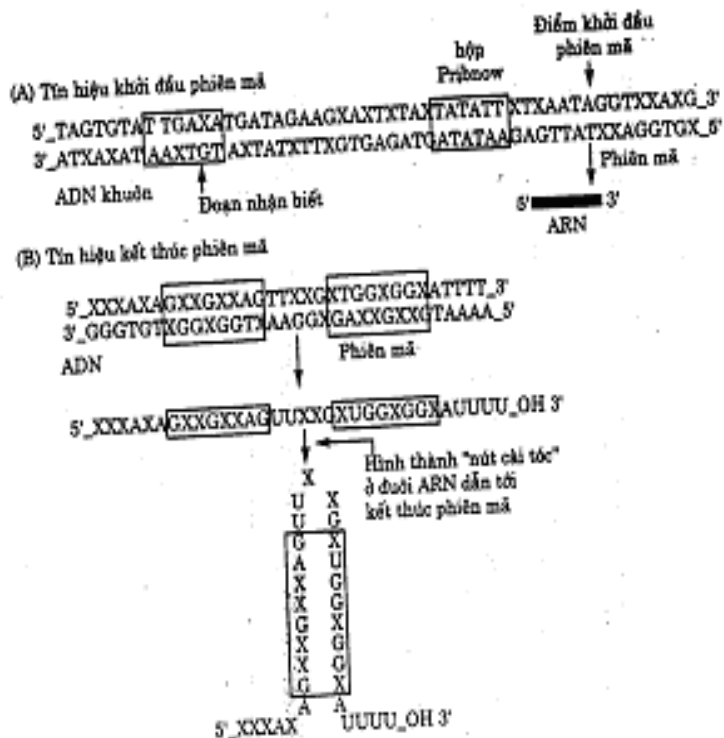
4.2.1.2 Vai trò của các tín hiệu khởi đầu và kết thúc phiên mã.

- Tín hiệu khởi đầu phiên mã đó là vùng khởi động (promotor) có chứa hai vị trí đặc hiệu, tạo điều kiện cho RNA polymerase nhận biết và bám vào để chuẩn bị khởi đầu quá trình phiên mã. Đoạn nhận biết nằm cách điểm khởi đầu phiên mã khoảng 35 nucleotit về phía trước, thường có trình tự 5' TTGACA (3'). Đoạn thứ hai có trình tự 5' TATATT (3') gọi là hộp TATA hay là hộp pribnow nằm cách điểm bắt đầu phiên mã 10 cặp nucleotit.

- Tín hiệu kết thúc bao gồm:

+ Nhân tố ρ : đây là một loại protein gồm có 6 tiểu đơn vị. Cơ chế hoạt động của nhân tố này hiện nay chưa được rõ, nhưng người ta đã chứng

minh được rằng, một đoạn dài khoảng 70-80 nucleotid của phân tử RNA mới tổng hợp quấn quanh ρ . Có lẽ ρ có chức năng tách enzyme và sợi RNA ra khỏi khuôn DNA.



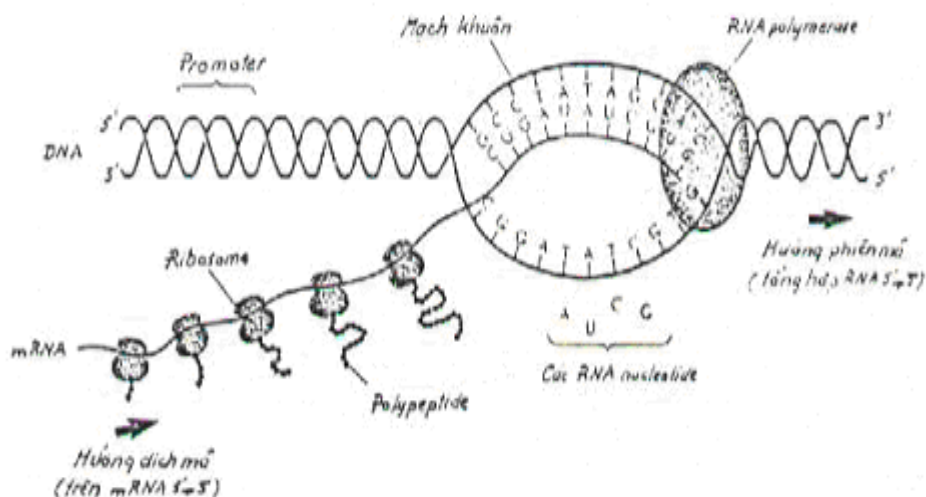
(A) ARN polymeraza nhận biết và bám vào hai đoạn đặc thù nằm gần các vị trí -35 và -10 của vùng khởi động.

(B) ARN polymeraza dừng lại sau khi phiên mã xong vùng oligo (U) nằm sau đoạn trình tự đối xứng xuôi ngược. ARN vừa được tổng hợp hình thành "nút cài tóc" báo hiệu kết thúc phiên mã cho ARN polymeraza.

Hình 42. Tín hiệu khởi đầu và kết thúc phiên mã

+ Một cấu trúc đặc hiệu trên sợi khuôn: Bao gồm hai trình tự đối xứng bổ sung tiếp theo là một loạt 6 adenine (chúng sẽ được phiên mã thành 6 uracyl). Ngay sau khi hai trình tự đối xứng bổ sung được hình thành trên RNA, chúng có thể bắt cặp với nhau tạo thành cấu trúc "kẹp tóc" ngăn không cho RNA-polymerase tiếp tục tổng hợp. Phần sợi khuôn nằm sau

RNA- polymerase sẽ trở lại cấu trúc ban đầu, tách rời khỏi enzyme và sợi RNA mới tổng hợp.



Hình 43. Phiên mã ở Eucaryote

4.2.2. Giai đoạn khởi động.

Enzyme RNA polymerase nhận biết quá trình tự khởi động trên sợi DNA (promotor), nhờ tiểu đơn vị α . Nhân tố α nhận biết được promotor là nhờ cấu trúc đặc trưng của nó. RNA-polymerase gắn vào promotor theo hai bước: Trước hết enzyme nhận biết và gắn một cách lỏng lẻo vào trình tự -35 (cách vị trí bắt đầu sinh tổng hợp 35 cặp base). Sau đó, phức hợp này chuyển thành phức hợp “mở”, trong giai đoạn này một vùng DNA bắt đầu từ trình tự -10 sẽ được tháo xoắn và một sợi DNA lộ ra dưới dạng tự do, làm khuôn cho sự sinh tổng hợp RNA.

4.2.3. Giai đoạn kéo dài.

Khi phân tử RNA đạt chiều dài khoảng 8 nucleotid thì nhân tố σ tách khỏi phức hợp enzyme. Lúc bấy giờ σ lại có thể gắn vào một promotor khác để khởi động một quá trình phiên mã mới. Sự tách rời nhân tố σ cần thiết cho giai đoạn kéo dài vì sự có mặt tiếp tục của nó sẽ gắn chặt phức hợp enzyme vào promotor khiến cho enzyme không thể trượt dài theo sợi khuôn DNA để tiến hành quá trình sinh tổng hợp. Nhân tố σ

được thay thế bằng các nhân tố kéo dài (elongation factors). RNA-polymerase tháo xoắn liên tục phân tử DNA trên một chiều dài khoảng 17 nucleotid theo tiến triển của quá trình sinh tổng hợp. Sợi RNA mới sẽ tách khỏi mạch khuôn DNA, trừ một đoạn khoảng 12 nucleotid bắt đầu từ điểm tăng trưởng vẫn liên kết với DNA. Phần DNA được tháo xoắn sẽ được xoắn trở lại sau đó.

4.3.3. Giai đoạn kết thúc.

Trên DNA vi khuẩn tồn tại dấu hiệu “kết thúc”. Khi RNA polymerase gặp dấu hiệu này nó sẽ ngừng quá trình sinh tổng hợp, nhả sợi DNA khuôn ra và có thể bắt đầu hoạt động ở nơi khác.

4.4 *Quá trình phiên mã ở eucaryotae.*

4.4.1 Một số điểm khác hơn so với ở procaryotae.

- Tất cả các gen ở procaryotae đều được phiên mã bởi 1 polymerase duy nhất, trong khi ở eucaryotae có 3 loại polymerase chịu trách nhiệm phiên mã các loại gen khác nhau: loại I cho các RNA của ribosome, loại II phiên mã các RNA thông tin và loại III cho các RNA kích thước nhỏ, như các RNA vận chuyển.

- Các RNA thông tin vừa được phiên mã từ DNA hầu như không bao giờ được dịch mã ngay thành protein như ở procaryotae. Đầu tiên các tiền-RNA thông tin được hình thành trong nhân sẽ phải chịu một số biến đổi hóa học trước khi xuất hiện trong tế bào chất dưới dạng hoạt động.

- Do cấu trúc có nhân của eucaryotae, quá trình phiên mã tạo RNA thông tin xảy ra trong nhân, còn quá trình dịch mã tổng hợp protein xảy ra trong tế bào chất nên hai quá trình này không đồng thời như ở procaryotae.

- Sự khởi động phiên mã ở các cơ thể đa bào eucaryotae không đáp ứng tức thời với điều kiện ngoại cảnh như ở procaryotae.

Một đặc điểm của các mRNA ở eucaryotae là mỗi mRNA mã hóa cho 1 chuỗi polypeptid trong khi ở procaryotae mỗi mRNA thông tin mã hóa cho nhiều chuỗi polypeptid.

4.4.2 Các giai đoạn phiên mã ở tế bào eucaryotae.

4.4.2.1. Giai đoạn khởi động.

Chịu sự kiểm tra của 1 trình tự đặc biệt - hộp TATA- nằm trước vị trí bắt đầu phiên mã khoảng 25-35 nucleotide. Ở một số gen, trình tự TATA được thay bằng một trình tự giàu GC.

RNA-polymerase II bắt đầu hoạt động phiên mã nhờ nhiều nhân tố phiên mã (TF- Transcription Factor) có bản chất protein. Trước tiên, nhân tố TFIID nhận biết và gắn vào trình tự TATA. Tiếp theo là việc gắn thêm nhân tố TFIIA. Lúc đó RNA- polymerase liên kết với TFIIIB sẽ gắn vào phức hợp TFIID-TFIIA. Một phân tử ATP được phân giải, năng lượng dùng để tách hai mạch DNA, phức hợp được “mở”. Cuối cùng, nhân tố TFIIIE cho phép khởi động sự phiên mã.

- Giai đoạn kéo dài: Phân tử RNA được tổng hợp từ mạch khuôn DNA. Quá trình này được tiến hành nhờ nhân tố TFIIIS.

- Giai đoạn kết thúc: Sự phiên mã kết thúc trước điểm gắn đuôi polyA rất xa. Sự kết thúc phiên mã có liên quan đến những cấu trúc dạng “kẹp tóc” tiếp ngay sau là quá trình tự giàu GC.

4.4.2.2 Quá trình trưởng thành của các tiền mRNA.

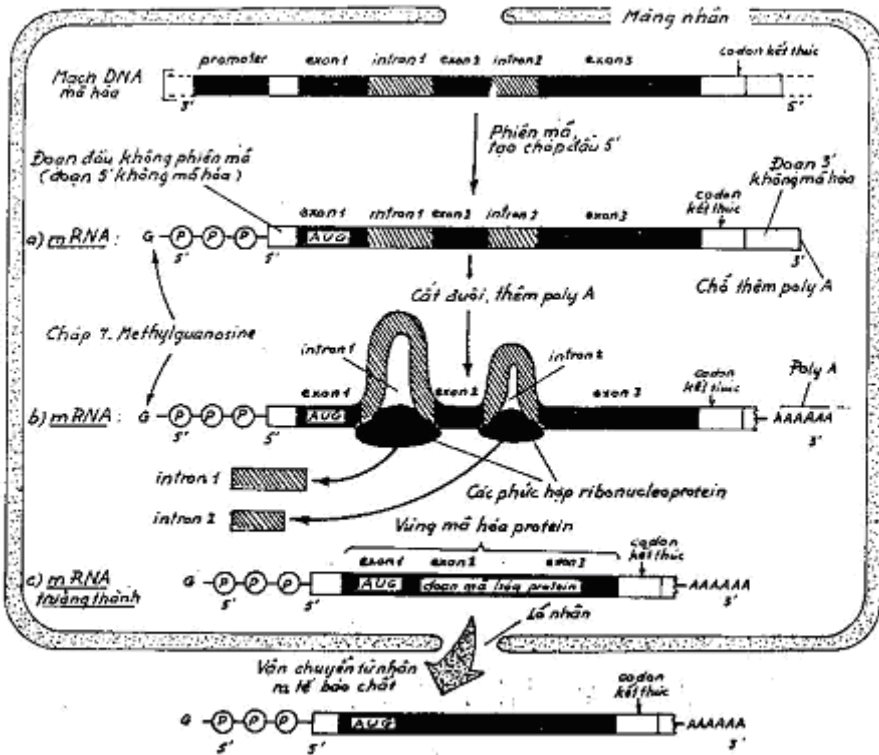
Trước khi sự phiên mã kết thúc, các tiền mRNA bắt đầu trải qua một quá trình biến đổi ngay trong nhân để trở thành các mRNA trưởng thành, quá trình này gồm các bước sau:

- Gắn chóp: ngay sau khi bắt đầu phiên mã, một guanine có gắn nhóm methyl ở N₇ (7-methyl guanine), được gắn vào đầu 5'P của mRNA nhờ liên kết 5'-5' triphosphate.

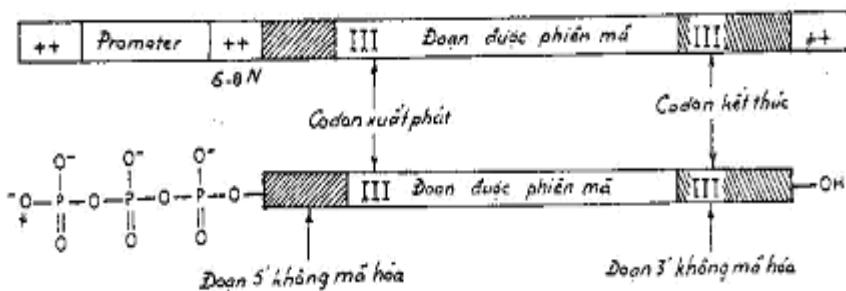
- Thêm đuôi: Ngay sau khi được phiên mã, các mRNA sẽ bị cắt bỏ khoảng 20 nucleotide nằm trước một trình tự AAUAAA, đây chính là trình tự nhận biết cho phản ứng cắt. Sau đó 1 enzyme có trong nhân-polyA-polymerase sẽ gắn một số lượng adenine nhất định (khoảng 250 ở động vật có vú, 100 ở eucaryotae bậc thấp) vào đầu 3' của mRNA. Một protein, PABP (PolyA Binding Protein-Protein liên kết với polyA) sẽ gắn vào đuôi polyA. Protein này cần thiết cho sự sống còn và sinh trưởng của tế bào. Đuôi polyA kết hợp với PABP có vai trò trong sự ổn định các mRNA và việc khởi sự dịch mã.

Đến giai đoạn này, tiền mRNA đã được hình thành, nhưng để chuyển thành dạng hoạt động, phân tử này còn phải trải qua một bước biến đổi: quá trình ghép nối.

- Quá trình ghép nối (splicing): Đây là quá trình loại bỏ các intron và nối các exon lại với nhau hình thành nên mRNA trưởng thành (hoạt động). mRNA trưởng thành sẽ đi ra tế bào chất qua các lỗ trên màng nhân để tham gia vào quá trình dịch mã (sinh tổng hợp protein).



Hình 44. Phiên mã gián đoạn ở Eucaryote



Hình 45. Cấu trúc m RNA của Eucaryote

5. Mã di truyền và dịch mã

RNA thông tin chỉ là giai đoạn trung gian giữa DNA và protein. Ở eucaryotae, RNA thông tin giúp chuyển thông tin mã hóa trên DNA nằm trong nhân ra đến bộ máy dịch mã tạo protein ngoài tế bào chất. Quá trình sinh tổng hợp protein cũng như quá trình sinh tổng hợp DNA, RNA tuân theo một số nguyên tắc chung. Tuy nhiên, quá trình dịch mã phức tạp hơn nhiều so với sự sao chép và phiên mã. Điều đó là do cơ chế của sự sao chép hay phiên mã chủ yếu dựa vào ái lực giữa các base thành phần cấu tạo phân tử mới với các base của khuôn, biểu hiện qua các liên kết hydro giữa chúng. Còn trong quá trình dịch mã các amino acid tuy được nối kết với nhau theo khuôn RNA nhưng chúng là hoàn toàn không có ái lực với phân tử RNA. Do đó trong quá trình sinh tổng hợp protein, ngoài khuôn mRNA và các đơn vị thành phần cấu tạo nên phân tử mới (các amino acid), còn cần sự hiện diện của các nhân tố tiếp hợp (adaptor). Các nhân tố tiếp hợp này làm vật trung gian giúp cho các amino acid không phải tiếp xúc với khuôn RNA. Đó chính là các RNA vận chuyển (tRNA). Quá trình dịch mã tiến hành theo một cơ chế chung cho tất cả mọi tế bào.

5.1 Các loại RNA và vai trò của chúng trong quá trình sinh tổng hợp protein.

5.1.1 RNA thông tin và mã di truyền.

RNA thông tin (ký hiệu là mRNA) còn được gọi là RNA trung gian, được tổng hợp trên khuôn mẫu của gen cấu trúc, trên mạch gốc có chiều 3'OH - 5'P của phân tử DNA. mRNA làm nhiệm vụ truyền thông tin di truyền từ gen cấu trúc (DNA) sang sản phẩm protein nhờ nguyên tắc mã bộ ba và đối mã di truyền. Trong tế bào hàm lượng mRNA chiếm tỷ lệ nhỏ (khoảng vài phần trăm) trong tổng số các loại RNA. Thời gian tồn tại của mRNA tùy thuộc vào loài, đối với procaryotae là khoảng 2 phút còn đối với eucaryotae có thể từ 30 phút đến 24 giờ.

Trên cơ sở mối quan hệ thông tin DNA - mRNA - protein mà người ta nêu lên lý thuyết về mã di truyền. Trình tự phân bố các nucleotide trong phân tử DNA qui định trình tự phân bố các ribonucleotide trong phân tử mRNA và trình tự sắp xếp các ribonucleotide trong mRNA qui định trình tự sắp xếp các axit amin trong phân tử protein được tổng hợp. Về mặt số lượng thì trong phân tử mRNA có 4 loại nucleotide và trong phân tử protein có ít nhất 20 loại axit amin. Vậy, nếu cứ 1 nucleotide qui định 1 axit amin thì chỉ có 4^1 loại axit amin được tổng hợp, nếu cứ 2 nucleotide qui định 1 axit amin thì chỉ có $4^2 = 16$ axit amin được tổng hợp.

Như vậy sẽ thiếu, có một số axit amin không được tổng hợp. Còn nếu cứ 3 nucleotid qui định 1 axit amin thì sẽ có $4^3 = 64$ loại axit amin được tổng hợp, không những đủ các loại axit amin mà còn thừa. Do đó, giả thuyết này tạm thời được công nhận.

Vấn đề tiếp theo là xác định chính xác các bộ ba (codon) nào mã hóa cho axit amin nào. M. W Nirenberg và H. Matthaei đã dùng enzyme theo phương pháp của Ochoa tổng hợp mRNA nhân tạo. Sau đó đưa men này vào trong môi trường chỉ có 1 loại uracyl thì nhận được RNA toàn bộ là uracyl (polyU), nếu chỉ có adenine thì nhận được polyA...

Năm 1961, các tác giả trên đã dùng polyU thay cho mRNA để tổng hợp protein trong hệ thống vô bào (có axit amin, enzyme tổng hợp protein, nhưng không có DNA), sản phẩm nhận được là mạch polypeptide polyphenylalanine, chỉ chứa 1 loại axit amin là phenylalanine và tỷ lệ uracyl / phenylalanine là 3/1. Điều đó chứng tỏ, codon UUU mã hóa cho phenylalanine. Sau đó, người ta cũng đã xác định AAA mã hóa cho lysine, GGG cho glycine, CCC cho proline....

Vào năm 1964, H.G Khorana tìm ra phương pháp tạo mRNA tổng hợp nhân tạo với trình tự lặp lại (như AAG AAG AAG ...) nhờ đó đã giải quyết các vấn đề còn chưa rõ.

Các đặc điểm của mã di truyền.

- Mã di truyền là mã bộ ba, nghĩa là cứ 3 nucleotide kế tiếp mã hóa cho 1 axit amin.

- Mã di truyền không gối lên nhau. Thông tin trong phân tử mRNA được đọc theo chiều 5'P - 3'OH kể từ codon khởi đầu.

- Mã di truyền có tính chất đặc hiệu, nghĩa là mỗi bộ ba chỉ mã hóa cho 1 axit amin nhất định.

- Mã di truyền có tính chất "thoái hóa", nghĩa là phần lớn nhiều bộ ba cùng mã hóa cho 1 axit amin.

- Mã di truyền có codon khởi đầu AUG mã hóa cho methyonine và các codon kết thúc không mã hóa (UAG, UAA, UGA), nhưng là tín hiệu kết thúc chuỗi protein được tổng hợp.

- Mã di truyền có tính chất phổ biến, nghĩa là toàn bộ sinh giới đều sử dụng thống nhất mã di truyền.

Bảng 5. Bảng mã di truyền

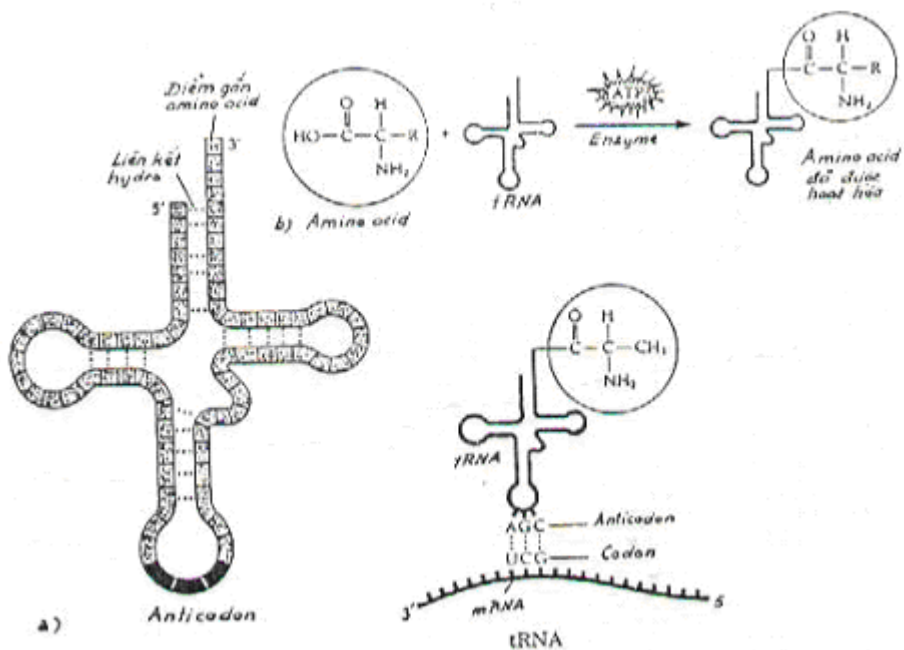
Nucleotid 1 ↓	Nucleotid 2				Nucleotid 3 ↓
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Lue	Ser	vô nghĩa	vô nghĩa	A
	Lue	Ser	vô nghĩa	Trip	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Glutamin	Arg	A
	Leu	Pro	Glutamin	Arg	G
A	Ileu	Thr	Asp	Ser	U
	Ileu	Thr	Asp	Ser	C
	Ileu	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

5.1.2 RNA vận chuyển (t.RNA hoặc s.RNA).

RNA vận chuyển chính là nhân tố tiếp hợp (adaptor) trong quá trình dịch mã. Ngoài chức năng làm nhiệm vụ trung gian giữa axit amin và khuôn mRNA, t.RNA còn giúp giải quyết trở ngại về không gian trong quá trình dịch mã (vận chuyển).

Số lượng các loại tRNA biến động theo loài, 30-40 ở vi khuẩn (procaryotae), 50 ở tế bào thực vật, động vật (eucaryotae) nhưng cấu trúc của chúng rất giống nhau. Một đặc điểm đáng chú ý là một t.RNA có thể kết hợp với hai codon khác nhau cùng mã hóa cho 1 axit amin.

Chức năng trung gian của t.RNA được thực hiện nhờ những enzyme đặc hiệu là các aminoacyl-t.RNA synthetase. Có 20 aminoacyl-t.RNA synthetase tương ứng với 20 loại axit amin. Các enzyme này có khả năng nhận biết axit amin đặc hiệu và cả t.RNA tương ứng. Quá trình gắn axit amin vào t.RNA với sự tham gia của enzyme này là một quá trình tiêu tốn năng lượng.



Hình 46. Cấu trúc của tRNA

t.RNA chiếm khoảng 10-20% tổng số các loại RNA.

Cấu tạo giống như chiếc lá 3 thùy:

- Thùy tác dụng với ribosome.
- Thùy mang bộ ba đối mã.
- Thùy có chức năng nhận biết enzyme, gắn amino acid tương ứng vào t.RNA.

Trên phân tử t.RNA có chỗ xoắn lại, tại các điểm này ribonucleotide có thể liên kết với nhau theo nguyên tắc bổ sung.

5.1.3 RNA ribosome (r.RNA)

Ribosome được cấu tạo từ các r.RNA và hơn 50 loại protein. Chúng được phân thành hai tiểu đơn vị- một tiểu đơn vị lớn và một tiểu đơn vị nhỏ. Ở tế bào procaryotae, tiểu đơn vị lớn gồm 2 phân tử r.RNA và khoảng 35 protein, còn tiểu đơn vị nhỏ gồm 1 phân tử r. RNA và khoảng 20 protein. Trừ một vài sai khác về kích thước và thành phần, ribosome cũng như r.RNA ở procaryotae và eucaryotae có cấu trúc cơ bản giống nhau.

5.2 Các giai đoạn của quá trình dịch mã.

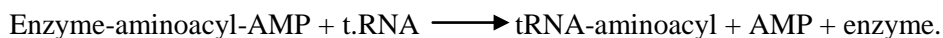
5.2.1 Hoạt hóa axit amin.

Mỗi axit amin có mặt ở bào tương được đính vào từng t.RNA thích hợp nhờ hoạt động xúc tác của enzyme aminoacyl-t.RNA synthetase đặc thù.

Đầu tiên enzym này xúc tác cho phản ứng ATP hoạt hóa axit amin thành phức hợp aminoacyl-AMP liên kết với enzyme.



Sau đó phức hợp này kết hợp với t.RNA tương ứng bằng liên kết đồng hóa trị tạo nên aminoacyl-t.RNA



5.2.2 Khởi đầu.

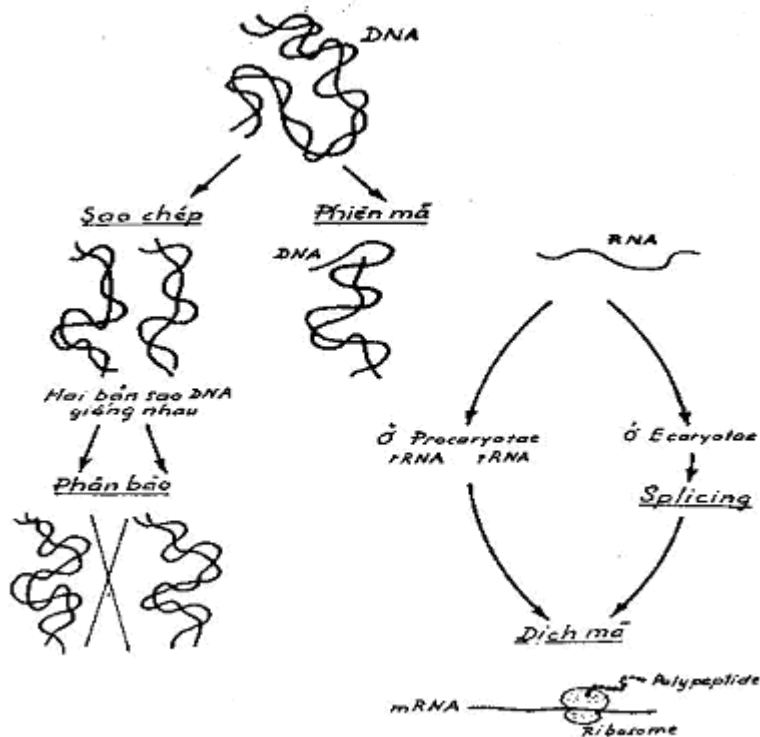
Là một giai đoạn cực kỳ phức tạp với sự tham gia của hàng loạt nhân tố protein: các nhân tố khởi động (IF -initiation Factor).

Dấu hiệu bắt đầu khởi động là codon AUG. Bước quan trọng nhất là hình thành tiểu đơn vị nhỏ của ribosome-Met-t.RNA-mRNA với sự tham gia của các nhân tố khởi động. Met-t.RNA cùng với 1 phân tử GTP (có chức năng cung cấp năng lượng) và tiểu đơn vị nhỏ của ribosome được gắn vào vị trí chuyên biệt của mRNA, vị trí này nằm rất gần codon AUG khởi động. Một trong các nhân tố khởi động có vai trò đặc biệt quan trọng trong việc phát hiện codon khởi động để phức hợp gắn vào. Ngay sau khi codon khởi động được phát hiện thì tiểu đơn vị lớn của ribosome sẽ đến kết hợp với phức hợp và sự dịch mã bắt đầu.

5..2.3 Kéo dài chuỗi polypeptide.

Là giai đoạn tương đối đơn giản, mang tính lặp lại. Sau khi amino acid đầu tiên (Met) đã được đặt vào vị trí, chuỗi polypeptide bắt đầu được tổng hợp (kéo dài). Aminoacyl-t.RNA kế tiếp sẽ đến xếp đúng vào vị trí

trên ribosome nhờ một trong các nhân tố kéo dài (EF-elongation Factor).
 Có 2 vị trí chuyên biệt trên ribosome:



Hình 47. Dòng thông tin trong quá trình dịch mã

Vị trí A tiếp nhận aminoacyl - t.RNA kế tiếp và vị trí P giữ phức hợp peptidyl-t.RNA, tức là chuỗi polypeptide đang hình thành.

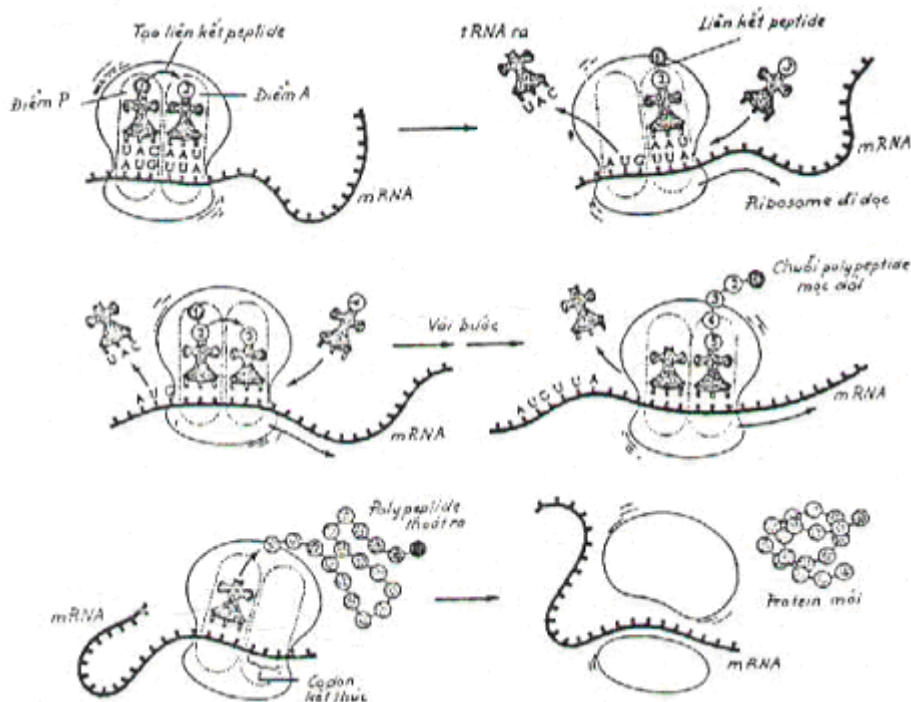
Sự tiếp xúc giữa peptidyl-t.RNA và aminoacyl-t.RNA sẽ dẫn đến sự hình thành liên kết peptide gắn amino acid mới vào chuỗi polypeptide đang hình thành. Quá trình được lặp lại cho đến khi xuất hiện dấu hiệu kết thúc dịch mã.

5.2.4 Kết thúc sinh tổng hợp protein.

Khi dấu hiệu kết thúc dịch mã (một trong các codon UAG, UAA, UGA) được nhận biết bởi nhân tố kết thúc (Termination Factor-TF). Sự có mặt của TF với enzyme peptidyltransferase gây sự chuyển dịch của ribosome và phức hợp peptidyl-t.RNA lập tức tách làm đôi: phân tử

t.RNA tự do và chuỗi polypeptide hoàn chỉnh. Lúc đó, ribosome cũng tách khỏi mRNA, hai tiểu phần lớn nhỏ cũng tách nhau ra ở dạng tự do.

Có thể một lúc trên phân tử mRNA có nhiều ribosome (polysome) trượt qua để tổng hợp protein. Nghĩa là trên một phân tử mRNA có thể tổng hợp nhiều phân tử protein. Điều này phụ thuộc vào nhu cầu sinh lý của tế bào.



Hình 48. Mô hình dịch mã ở ribosome

5.3 Điều hòa sự biểu hiện của gen.

Trong bất kỳ tế bào nào, tất cả các gen đều không hoạt động đồng thời với cường độ như nhau, do đó không phải lúc nào sự sinh tổng hợp protein cũng xảy ra hoặc loại protein nào cũng được tổng hợp với số lượng như nhau. Như vậy, tế bào phải có cơ chế điều hòa để tổng hợp protein tiết kiệm và hợp lý nhất.

Một số gen hoạt động thường xuyên cung cấp sản phẩm liên tục, số khác có biểu hiện ở những giai đoạn nhất định trong chu kỳ sống. Một

số protein cần được tổng hợp với số lượng lớn, một số khác chỉ cần ít phân tử. Do vậy, hoạt tính của mỗi gen điều hòa bởi nhiều cơ chế khác nhau để có hiệu quả tốt nhất trong việc sử dụng nguồn năng lượng của tế bào.

Năm 1962, F. Jacob và J. Monod đã nêu ra quan niệm operon để giải thích sự điều hòa ở vi khuẩn *E. coli*.

Cơ chế điều hòa hoạt động của gen được biết nhiều nhất là trên đối tượng vi khuẩn và phage. Trong hệ thống này, hoạt động điều hòa đóng-mở xuất hiện khi tổng hợp một m.RNA để tạo một sản phẩm cần thiết. Ở sinh vật nhân chuẩn sự đóng hoàn toàn của 1 gen là phổ biến. Ở vi khuẩn, khi 1 enzyme tác động theo trình tự trong 1 chu kỳ chuyển hóa đơn thì có thể các enzyme này được sản sinh ra hoặc không. Hiện tượng này được gọi là sự điều hòa đồng hàng, là do sự kiểm soát tổng hợp của một phân tử m.RNA đa cistron mã hóa tất cả các sản phẩm của gen. Kiểu điều hòa này không xảy ra ở sinh vật nhân chuẩn, vì m.RNA của nó là đơn cistron.

Gồm có 2 cơ chế điều hòa: âm tính và dương tính.

Điều hòa âm tính : Một chất ức chế có mặt trong tế bào và cản trở sự phiên mã. Một chất độc lập với chất ức chế, gọi là chất cảm ứng (trao đổi) lại cho phép mở đầu sự phiên mã.

Điều hòa dương tính: Một phân tử chất tác động, có thể là protein hoạt hóa một điểm mở đầu.

5.3.1 Cơ chế điều hòa biểu hiện của gen ở tế bào procaryotae.

5.3.1.1. Operon và thành phần của nó.

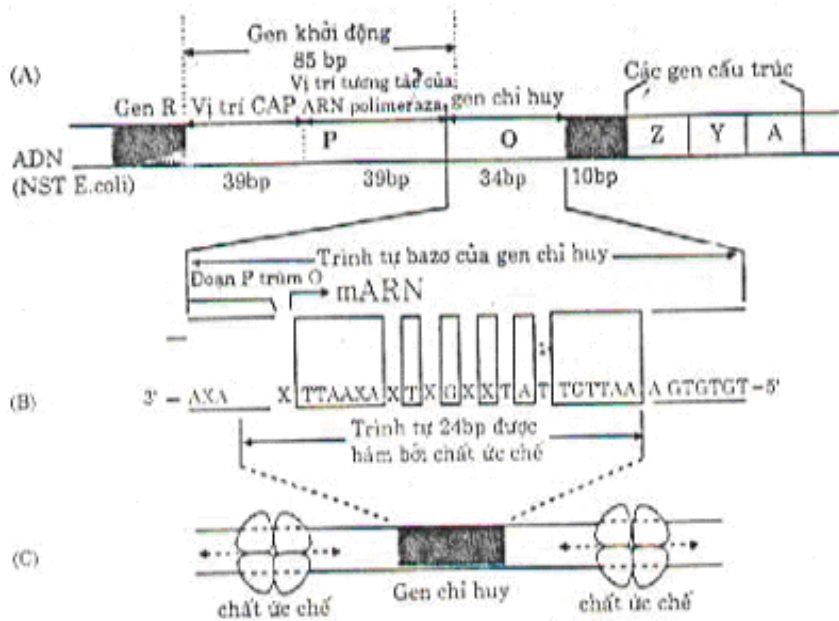
Phần lớn các gen trong hệ gen procaryotae được tổ chức thành đơn vị hoạt động chức năng gọi là operon. Năm 1961, Jacob và Monod đã đề xuất mô hình operon lactose. Mô hình này là một tổ hợp gồm các gen sau:

- Gen điều hòa (Regulator-R) sản sinh ra 1 loại protein điều hòa gọi là chất ức chế (repressor). Chất ức chế này có tác dụng điều chỉnh hoạt động của nhóm gen cấu trúc thông qua sự tương tác với gen chỉ huy.

- Gen chỉ huy (Operator-O) nằm kề trước nhóm gen cấu trúc và là vị trí tương tác với chất ức chế.

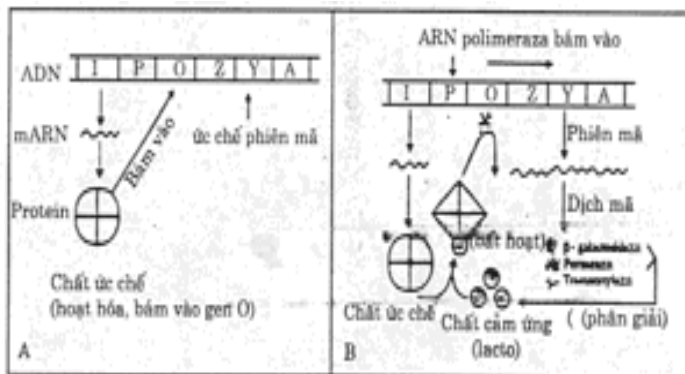
- Gen khởi động (Promotor-P) là đoạn DNA nằm trước gen chỉ huy có thể trù lên toàn bộ hoặc một phần gen chỉ huy. Đây là vị trí m.RNA bám vào để khởi đầu phiên mã.

- Nhóm gen cấu trúc (cistron) là một số gen liên quan về mặt chức năng, xếp cạnh nhau (đa cistron).



Hình 49. Các vùng điều hòa của operon lacto

5.3.1.2 Điều hòa âm tính.



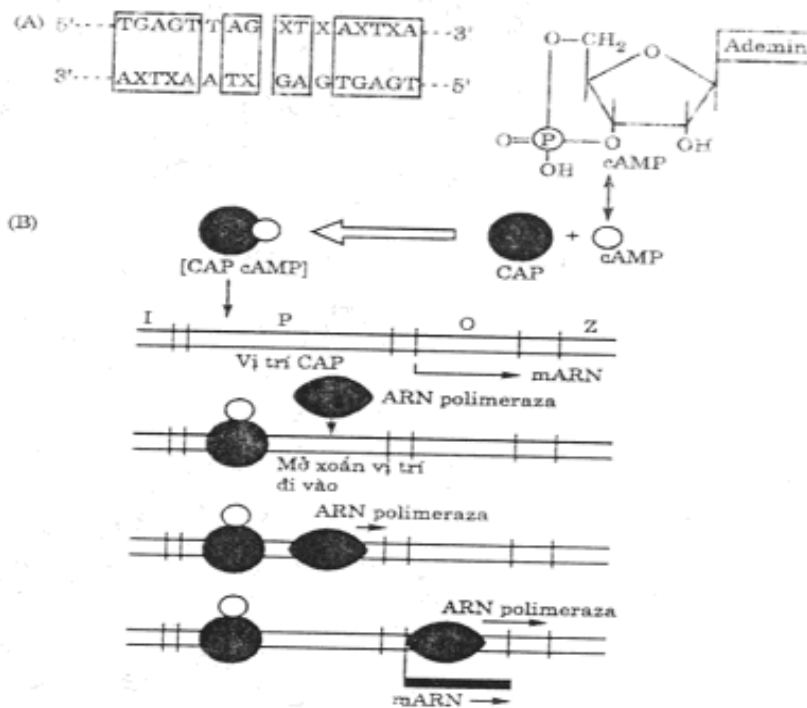
Mô hình cảm ứng điều hòa âm tính operon lac (A) không có lacto, chất ức chế bám vào gen chỉ huy, gây đình chỉ phiên mã. (B) Có lacto, nó hoạt động như một chất cảm ứng operon gen cấu trúc được phiên mã các enzym được tổng hợp để hấp thụ và phân giải lacto.

Hình 50. Mô hình cảm ứng điều hòa âm tính operon lac.

Khi trong môi trường nuôi cấy *E. coli* không có lactose (chất cảm ứng) thì operon không hoạt động, nghĩa là các enzyme tham gia chuyển hóa đường lactose không được sinh ra, vì chất ức chế bám vào gen chỉ huy, làm ức chế sự phiên mã của gen cấu trúc.

Khi bổ sung lactose vào môi trường thì một thời gian sau vi khuẩn sẽ bắt đầu hấp thụ và phân giải nó, nghĩa là enzyme liên quan đã được sinh ra. Lúc này chất cảm ứng (lactose) tương tác với chất ức chế làm biến đổi cấu hình của chất này, vì vậy nó không thể nhận biết và bám vào gen chỉ huy, gen này cho phép các gen cấu trúc được phiên mã để tổng hợp các enzyme tương ứng, phân giải lactose.

5.3.1.3 Điều hòa dương tính.



Hình 51. Sơ đồ điều hòa dương tính operon lacto.

Ngoài ra CAP chỉ hoạt động khi trong môi trường tế bào có hàm lượng cAMP cao; cAMP kết hợp với protein CAP tạo ra phức hợp CAP-cAMP hoạt động, có khả năng nhận biết và bám vào đoạn trình tự đối xứng ở vị trí CAP ở vùng gen khởi động, nhờ vậy RNA-polymerase được kích hoạt để bám vào vị trí tương ứng của nó, bắt đầu quá trình phiên mã.

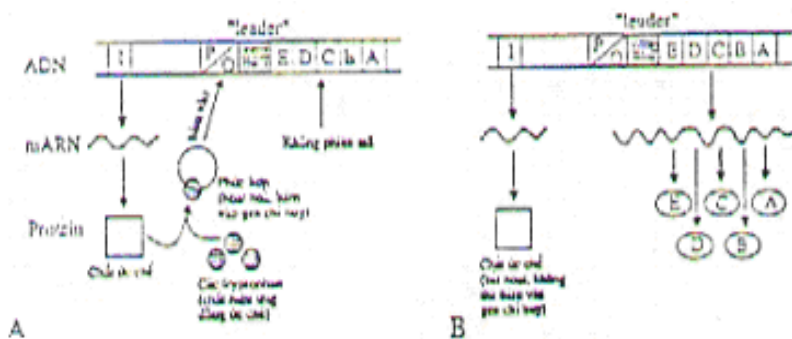
Khác với cơ chế điều hòa âm tính, là do sự tương tác giữa chất ức chế và gen chỉ huy, còn điều hòa dương tính là do sự tương tác giữa protein điều hòa thuộc phức hợp cAMP-CAP với vùng khởi động dẫn đến sự tăng cường phiên mã mà chủ yếu điều chỉnh tốc độ khởi đầu phiên mã.

5.3.1.4 Hoạt động của operon triptophan.

Operon triptophan của *E. coli* có 5 gene cấu trúc được ký hiệu A, B, C, D, E tham gia vào quá trình sinh tổng hợp amino acid triptophan.

Khi tế bào *E. coli* dư thừa triptophan thì operon ngừng hoạt động, do đó các enzyme tương ứng không được sinh ra. Điều này có thể được giải thích như sau: Chất ức chế bình thường ở trạng thái bất hoạt, nhưng khi có tryptophan dư thừa, nó sẽ bám vào và tạo thành phức hợp có hoạt tính (triptophan còn gọi là chất đồng ức chế) có khả năng bám vào gen chỉ huy để ức chế quá trình phiên mã.

Ngược lại, khi trong tế bào không có triptophan, chất ức chế ở trạng thái bất hoạt nên không bám vào gen chỉ huy được, vì vậy các gen cấu trúc lại hoạt động phiên mã. Kết quả các enzyme tham gia tổng hợp triptophan được sinh ra.



Hình 52. Mô hình ức chế điều hòa âm tính operon –trip ở *E.coli*

Khi hàm lượng triptophan được tổng hợp thừa sẽ ức chế trở lại, làm giảm hoạt động của operon.

5.3.2 Điều hòa phiên mã ở eucaryotae.

Sự điều hòa ở eucaryotae có những khác biệt lớn so với ở procaryotae cả về tín hiệu cũng như cơ chế điều hòa.

Tín hiệu điều hòa ở cơ thể đa bào là những phân tử do các tế bào chuyên biệt sản sinh, theo thể dịch lưu chuyển khắp cơ thể. Các phân tử này tác động lên những nhóm tế bào “đích” điều chỉnh biểu hiện của gen ở các tế bào này theo đúng chương trình đã định sẵn cho phù hợp với sự phát triển của toàn cơ thể. Có hai nhóm phân tử điều hòa chính: các hormone và các nhân tố tăng cường (Growth Factor- GF).

Bộ gen eucaryotae có các điểm đặc thù:

- Kích thước bộ gene rất lớn.
- Phân tử DNA được nén chặt trong nhân

Do vậy mà hệ thống điều hòa đơn giản của procaryotae dựa vào sự nhận biết một trình tự DNA ngắn bởi một protein duy nhất trong giai đoạn phiên mã không còn phù hợp. Sự điều hòa biểu hiện gen ở eucaryotae thể hiện trong mọi giai đoạn, từ trước lúc sao chép đến sau khi dịch mã. Cơ chế điều hòa cũng thay đổi theo từng giai đoạn.

5.3.2.1 Điều hòa bằng cách biến đổi cấu trúc nhiễm sắc chất (chromatin) hay cấu trúc của phân tử DNA.

Nhiễm sắc thể là cấu trúc liên kết của DNA và protein histon trong thời kỳ hai lần phân bào. Khi sự phân chia nhân bắt đầu (kỳ trước của phân bào), nhiễm sắc thể xoắn chặt lại, có dạng hình que đặc trưng. Nhiều công trình nghiên cứu cho thấy có sự tồn tại của những vùng “nhạy cảm” trong nhiễm sắc thể. Các vùng này tương ứng với các gen hoạt động của tế bào. Chúng có cấu trúc đặc trưng khiến chúng trở nên dễ tiếp cận đối với nhiều nhân tố như các enzyme thủy phân hay các enzyme sao chép và phiên mã. Như vậy mức độ điều hòa đầu tiên là sự sắp xếp các gen cần biểu hiện vào một cấu trúc nhiễm sắc thể, thuận lợi cho quá trình sao chép và phiên mã.

5.3.2.2 Điều hòa ở mức độ phiên mã.

Kiểu điều hòa này cơ bản giống sự điều hòa ở procaryotae, cũng dựa trên sự tương tác giữa các protein điều hòa với các trình tự DNA chuyên biệt, nhưng phức tạp hơn rất nhiều. Các trình tự DNA chuyên biệt là CIS và các protein điều hòa tương tác với chúng, các nhân tố TRANS.

- Trình tự CIS. Cũng giống như ở procaryotae, vùng 5' không phiên mã của gen được gọi là promotor chịu trách nhiệm điều khiển sự phiên mã của gen. Tuy nhiên, các trình tự điều hòa sự phiên mã lại nằm trước đó rất xa. Chính các trình tự này quyết định sự biểu hiện đặc trưng của một gen, nghĩa là gen được biểu hiện trong loại tế bào nào, vào thời điểm nào, dưới sự tác động của các nhân tố điều hòa nào. Một đặc điểm chung của các trình tự này là chúng thường có cấu trúc gồm hai phần đối xứng nhau, ví dụ, trình tự đáp ứng với hormone tuyến giáp dưới đây:



Các trình tự này được gọi chung là trình tự CIS.

Bên cạnh đó, còn một nhóm trình tự khác cũng tham gia vào điều hòa hoạt động của gen, đó là nhóm các trình tự khuếch đại (enhancer). Các enhancer này có tác dụng làm tăng biểu hiện của gen tương ứng. Khác với trình tự CIS, hoạt động khuếch đại phụ thuộc vào:

- Vị trí, chúng không nhất thiết phải nằm ở đầu 5' của các gen mà có thể hiện diện ở đầu 5', 3' hay ngay trong intron của gen.

- Hướng, sự đảo ngược hướng của chúng (từ 5'-3' sang 3'-5') không làm mất hoạt tính khuếch đại.

Với cùng các đặc tính đó, nhưng có tác dụng ngược lại là nhóm các trình tự dập tắt (silencer). Cơ chế hoạt động của hai nhóm này còn chưa được biết rõ.

- Các protein là nhân tố có tác động TRANS.

Một vài protein nhận biết hộp CCAAT, đã được xác định ở tế bào động vật có vú. Các nhân tố này có thể được phân biệt giữa các đơn vị của các phần tử CCAAT. Các hộp GC được nhận biết bởi các nhân tố phụ

Đặc điểm chung của các nhân tố này là chúng bao gồm ít nhất hai vùng cấu trúc-chức năng chính:

+ Vùng chịu trách nhiệm gắn nhân tố TRANS vào DNA.

+ Vùng tác động lên sự phiên mã.

Các vùng cấu trúc-chức năng này độc lập với nhau. Ngoài hai vùng trên, nhiều nhân tố Trans còn mang một số vùng phụ khác như vùng gắn

các hormone, các ion...Nhu vậy, các gen của eucaryotae được hoạt hóa bởi hai trình tự DNA có tác dụng CIS là promotor và enhancer, chúng được nhận biết các nhân tố protein có tác dụng Trans. Các nhân tố Trans này cho phép DNA-polymerase khởi sự phiên mã và đạt tốc độ phiên mã tối đa.

5.3.2.3 Hormone.

Ví dụ rõ nhất về các chất điều hòa nội tại của hoạt tính gen là các hormone. Đó là những chất được tạo ra do một loại tế bào mà có hiệu quả đến các tế bào khác. Các hormone thường được vận chuyển đến các phần của cơ thể nhưng chỉ có tác động đến các tế bào có các thụ thể (receptor) tương ứng. Sự tương tác giữa hormone với thụ thể gây nên tín hiệu tác động đến các vùng đặc hiệu của DNA, làm hoạt hóa gen hoặc nhóm gen tương ứng.

5.3.2.4 Điều hòa ở mức độ sau phiên mã.

- Hiện tượng “ghép nối” khác biệt.

Hệ thống loại bỏ intron và ghép nối exon của mRNA sơ cấp để hình thành mRNA trưởng thành, khác nhau tùy từng loại tế bào, mô. Việc ghép nối khác biệt các exon sẽ dẫn đến sự hình thành các mRNA khác nhau. Thông thường các mRNA mã hóa cho các protein có chức năng tương tự nhưng đôi khi chúng lại có chức năng hoàn toàn khác nhau. Một ví dụ là kiểu điều hòa ở gen calcitonine. Hai loại protein được dịch mã từ gen này là calcitonine và CGRP là một chất trung gian thần kinh được tìm thấy trong não. Hai protein trên là sản phẩm của hai mRNA hình thành do sự ghép nối tạo hai tổ hợp exon khác nhau.

- Điều hòa biểu hiện gen bằng cách tăng giảm thời gian sống của các mRNA.

Kiểu điều hòa này mang tính số lượng, mRNA càng tồn tại lâu trong tế bào thì càng được dịch mã thành nhiều protein. Hiện tượng này thấy rõ trong tế bào ung thư. Quá trình tổng hợp protein từ một số mRNA bền vững tạo ra một số lượng rất lớn các protein tương ứng.

- Nguồn dự trữ của các mRNA trong tế bào.

Rất nhiều gen được phiên mã nhưng không bao giờ được dịch mã ngay. Khi có một tín hiệu xuất hiện (hormone chẳng hạn), bộ máy dịch mã lập tức hoạt động, tổng hợp protein từ các mRNA đã trữ sẵn.

5.3.2.5 Điều hòa trong giai đoạn dịch mã.

Sự điều hòa biểu hiện của gen trong giai đoạn này còn chưa được biết rõ. Tuy nhiên kiểu điều hòa này có liên quan đến các mRNA dự trữ trong tế bào.

5.3.2.6 Điều hòa trong giai đoạn sau dịch mã.

Các protein sau dịch mã có thể trải qua nhiều biến đổi hóa học như glycosyl hóa, phosphoryl hóa, acetyl hóa.... Sự điều hòa trong giai đoạn này là một vấn đề rất lớn và phức tạp.

6. Đột biến gen

6.1 Khái niệm về đột biến gen.

Trong lịch sử nghiên cứu đột biến, các phương pháp nghiên cứu ngày càng hoàn thiện, người ta có những quan niệm khác nhau về đột biến gen.

Muller, 1941; Rieger, Michaelis, 1958 quan niệm đột biến gen là những biến đổi chỉ xảy ra trong giới hạn 1 gen, làm xuất hiện allele mới, không liên quan tới sai hình nhiễm sắc thể. Theo các tác giả thì khái niệm đột biến gen đồng nghĩa với khái niệm đột biến trong gen.

Charlotte, Aurebach, 1976 lại quan niệm, đột biến gen là những biến đổi không chỉ xảy ra trong 1 gen, mà có thể xảy ra những biến đổi đưng chạm tới nhiều gen, gọi là đột biến cụm gen.

Guliaev, Malchenco, 1975 cho rằng những đột biến di truyền theo Mendel bình thường có thể là đột biến gen hoặc sai hình nhiễm sắc thể, không thể phát hiện được về phương diện tế bào, không làm giảm khả năng sống của các loại giao tử. Theo các tác giả thì thuật ngữ đột biến gen thường được dùng để chỉ các đột biến phát hiện được theo kiểu hình. Sự phân biệt đột biến gen và đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể hoàn toàn có tính qui ước, phụ thuộc vào tính khách quan của các phân tích về tế bào học.

Trên cơ sở những phân tích về đột biến gen, có thể định nghĩa khái quát đột biến gen là những biến đổi đột ngột xảy ra trong cấu trúc phân tử của gen, làm thay đổi số lượng, thành phần, trình tự phân bố các nucleotide tạo nên những alen mới, thay đổi khả năng biểu hiện của tính trạng.

Đột biến gen khác với đột biến nhiễm sắc thể ở các điểm sau:

- Đột biến gen xảy ra ở cấp độ phân tử, có khả năng xảy ra theo hướng ngược lại.

- Đa số là đột biến nhỏ nên khó phát hiện bằng những quan sát tế bào học, còn sai hình nhiễm sắc thể có thể phát hiện bằng phương pháp phân tích tế bào và nhiều đột biến có thể phát hiện qua kiểu hình.

6.2 Phân loại và cơ chế đột biến gen.

Đột biến gen là hình thức biến đổi vật chất di truyền ở cấp độ phân tử thường gây ra các dạng: đảo vị trí các nucleotide, thêm nucleotide, mất cặp nucleotide. Xét về mặt nguồn gốc có thể chia đột biến gen thành 2 loại: các đột biến tự phát và đột biến nhân tạo hay còn gọi là đột biến cảm ứng.

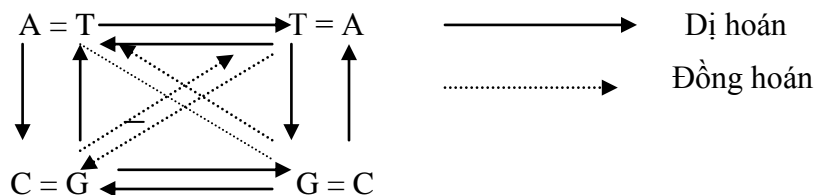
Loại thứ nhất xảy ra trong tế bào do sai sót trong quá trình tái bản, như hiện tượng hồ biến dẫn tới kết cặp sai hoặc do các gen đột biến hoặc do các vùng dễ bị đột biến trong phân tử DNA, người ta gọi các vùng dễ bị đột biến là các “điểm nóng”, tại các điểm này thường chứa nhiều AT, cũng có thể do bị tổn thương dưới ảnh hưởng của điều kiện môi trường.

Nếu dựa vào các biến đổi trong cấu trúc của gen ở từng nucleotide riêng rẽ thì có thể chia ra đột biến thay thế và đột biến dịch khung.

6.2.1. Các đột biến thay thế cặp base nitơ. Có 2 kiểu thay thế, đó là đồng hoán và dị hoán.

- Đồng hoán: là dạng đột biến, trong đó 1 base purine này được thay bằng 1 base purine khác (AT được thay bằng GC; GC được thay bằng AT) hoặc 1 base pyrimidine này được thay bằng 1 base pyrimidine khác (TA được thay bằng CG; CG được thay bằng TA).

- Dị hoán: là dạng đột biến trong đó 1 base purine được thay bằng 1 base pyrimidine hoặc ngược lại (AT được thay bằng CG; AT được thay bằng TA)



Các hiện tượng đồng hoán tự phát có thể xảy ra trong khi tái bản DNA do hiện tượng hồ biến, do sự thay đổi vị trí của 1 nguyên tử hydro của 1 base kéo theo sự thay đổi đặc tính hình thành liên kết hydro bình thường giữa A và T, giữa G và C. Hậu quả của sự biến đổi dẫn tới sự kết

cặp nhằm giữa các base, do đó trong những lần tái sinh tiếp theo sẽ tạo ra các thể đột biến đồng hoán tương ứng.

6.2.2 Các dạng đột biến dịch khung.

Là dạng mất hoặc thêm một cặp base nitơ trên phân tử DNA khi kết thúc tái bản ở 1 DNA con nào đó. Điều này sẽ dẫn đến dịch khung đọc, dẫn tới hậu quả sản phẩm protein tạo ra thay đổi về kích thước, cấu trúc nên không thực hiện được chức năng sinh học.

6.3 Một số ví dụ về đột biến gen.

6.3.1 Đột biến nhằm nghĩa.

Đây là dạng đột biến do thay thế 1 base nitơ nào đó trong gen dẫn tới hình thành 1 codon mới, thay đổi thành phần, trình tự phân bố các nucleotide trong codon, dẫn tới codon đó mã hóa 1 axit amin khác. Hậu quả của đột biến này phụ thuộc vào vị trí và tính chất của axit amin bị biến đổi trên mạch polypeptide. Ví dụ, các đột biến thay thế nhằm nghĩa thường gặp ở chuỗi β của hemoglobin ở người. Đột biến này là do thay đổi codon trong RNA tổng hợp hemoglobin từ GAA biến thành GUA dẫn tới axit amin vị trí thứ 6 là glutamic được thay bằng valine (HbA trở thành HbS). Đột biến HbC do cấu trúc codon GAA đổi thành AAA và glutamic được thay bằng lysine. Tương tự đột biến HbE là do codon GAA mã hóa glutamic ở vị trí 26 được đổi thành AAA mã hóa cho lysine.

6.3.2 Đột biến vô nghĩa.

Do thay thế 1 base nitơ này bằng 1 base nitơ khác trong gen cấu trúc, hình thành một codon kết thúc thay cho codon có nghĩa trước đây, dẫn tới mạch polypeptide được tổng hợp bị ngắn lại, làm mất hoạt tính sinh học.

Trường hợp đột biến làm thay đổi codon kết thúc thành codon có nghĩa dẫn tới chuỗi polypeptide được tổng hợp sẽ dài ra.

6.3.3 Đột biến dịch khung.

Là dạng đột biến do mất hoặc thêm 1 base nitơ trong cấu trúc của gen dẫn tới khung đọc các mã di truyền thay đổi. Hậu quả dẫn tới biến đổi thành phần, trình tự axit amin trong phân tử protein được tổng hợp.

6.4 Các kiểu hình của đột biến gen.

6.4.1 Tính chất biểu hiện kiểu hình của đột biến gen.

Kiểu hình của đột biến gen rất đa dạng, vì mỗi gen có thể đột biến ở nhiều mức độ khác nhau tạo nhiều kiểu hình khác nhau. Nếu đột biến xảy ra trong giảm phân, thường xảy ra ở tế bào sinh dục, qua thụ tinh sẽ tồn tại ở hợp tử. Các đột biến trội sẽ xuất hiện ngay trên kiểu hình các cá thể mang đột biến đó. Các đột biến lặn đi vào hợp tử, tồn tại ở trạng thái dị hợp, rồi qua giao phối lan truyền chậm chạp trong quần thể, trải qua một số thế hệ được nhân lên và có điều kiện gặp gỡ nhau trong giao phối, lúc đó kiểu hình đột biến lặn xuất hiện. Đột biến xuất hiện với tần số rất thấp, nếu tính trên từng gen riêng rẽ chỉ vào khoảng 10^{-6} - 10^{-4} . Ở một loài dễ đột biến, tần số đột biến có thể lên tới 10^{-2} .

Đại bộ phận các gen đột biến thường có hại, làm phá vỡ tình hài hòa của kiểu gen, tuy nhiên xét cho cùng tính lợi hại của đột biến gen chỉ là tương đối, trong điều kiện này có hại nhưng chuyển sang điều kiện khác lại là kiểu hình có lợi. Nếu đột biến chỉ xảy ra ở những lần nguyên phân đầu tiên của hợp tử trong giai đoạn 2-8 phôi bào sẽ tạo nên đột biến tiền phôi, có khả năng đi vào các giao tử, di truyền và biểu hiện kiểu hình đột biến ở thế hệ sau qua sinh sản hữu tính. Nếu xảy ra trong nguyên phân sẽ tồn tại ở tế bào sinh dưỡng (soma) tạo nên đột biến soma, rồi nhân lên trong một mô. Nếu là đột biến trội sẽ biểu hiện ở một phần cơ thể tạo nên thể khảm. Đột biến soma có thể được nhân lên bằng sinh sản sinh dưỡng, không di truyền qua sinh sản hữu tính.

6.4.2 Một số kiểu hình của đột biến gen.

- Đột biến hình thái.

Đó là các đột biến có sự thay đổi hình dạng, màu sắc, kích thước cơ thể. Ví dụ, đột biến thân thấp, hạt thóc râu dài, bẹ lá tím ở một số giống lúa được xử lý bằng tia gama, hóa chất ở hạt nảy mầm.

Đột biến bạch tạng ở người và động vật do đột biến lặn của gen qui định tạo thành sắc tố trong da (melanin), người bạch tạng có da, tóc trắng.

- Đột biến gây chết.

Loại đột biến này thường xảy ra ở những gen thiết yếu. Các cơ thể đơn bội mang gen gây chết thì chết tức thì. Các đột biến gây chết thường là đột biến lặn, chỉ có tác dụng gây chết ở những cá thể đồng hợp lặn, cá thể dị hợp mang gen gây chết thì cơ thể vẫn sống. Khi các cá thể dị hợp giao phối với nhau, xuất hiện 1 số cá thể đời con đồng hợp lặn, mới biểu hiện gây chết.

- Đột biến dinh dưỡng.

Là loại đột biến mà cơ thể chỉ phát triển trong môi trường có chất dinh dưỡng bổ sung mà ở kiểu hình hoang dại (không đột biến) không cần chất đó. Các đột biến dinh dưỡng chủ yếu được phát hiện ở các vi sinh vật như *E. coli*, *sacharomyces cerevisiae*, nấm *neurospora*.... Các thể hoang dại mọc được trên môi trường tối thiểu được gọi là cơ thể nguyên dưỡng. Các thể này có khả năng sử dụng các chất đơn giản trong môi trường tối thiểu để chuyển hóa thành các chất cần thiết cho tế bào như amino acid, nucleic.... Các cơ thể mang đột biến dinh dưỡng hay còn gọi là đột biến khuyết dưỡng không mọc được trên môi trường tối thiểu, chỉ mọc được trên môi trường có đủ các chất cần thiết.

- Đột biến có điều kiện.

Dạng đột biến này chỉ tác động lên cơ thể mang nó trong điều kiện nhất định. Loại đột biến này thường là đột biến cảm ứng với nhiệt độ. Kiểu hoang dại sinh trưởng tốt trong điều kiện nhiệt độ cao hoặc thấp. Các thể đột biến hoàn toàn không mọc được trong điều kiện nhiệt độ khác nhau.

7. Di truyền học Hemoglobin với công tác giống gia súc.

7.1 Cấu trúc, chức năng di truyền của Hemoglobin.

Hemoglobin ở người và động vật có chức năng chủ yếu là vận chuyển oxy. Chức năng của hemoglobin đã được phát triển qua sự tiến hóa, chủ yếu qua các bước phát triển cao của sắc tố hô hấp để hình thành hemoglobin, sau đó là bước định khu hemoglobin trong các tế bào biệt hóa, đó là hồng cầu.

Hemoglobin có trọng lượng phân tử khoảng 66.700 (người), bao gồm 4 nhóm hem, chứa sắt, gắn với 4 chuỗi globin là phân protein của phân tử hemoglobin. Bốn chuỗi globin gồm 2 nhị hợp, tức là các protein dưới dạng 2 cặp chuỗi α và 2 cặp chuỗi β (ở người trưởng thành).

Chuỗi polypeptit α gồm 141 axit amin, chuỗi β gồm 146 axit amin và đều có trọng lượng phân tử khoảng 1700. Mỗi chuỗi polypeptit liên kết với 1 nhóm hem tạo thành monomer (đơn phân), cả đại phân tử gồm 4 monomer, tạo thành tetramer.

Hem là vòng pocfirin có nguyên tử sắt ở giữa. Cấu trúc của hem không biến đổi, giống nhau ở mọi phân tử hemoglobin.

Vì vậy, trong nghiên cứu di truyền học hemoglobin, người ta chỉ đề cập tới các hiện tượng liên quan đến phần protein của đại phân tử hemoglobin, tức là globin.

Bằng phương pháp sắc ký kết hợp các phân tích khác, người ta đã phát hiện bản chất di truyền các rối loạn trong chức năng hoạt động bình thường của hemoglobin ở người.

Một loại bệnh di truyền do đột biến gen được phát hiện về hemoglobin dị dạng, bệnh hồng cầu hình lưỡi liềm (HbS). Loại hồng cầu này không hoàn chỉnh, dễ bị phân hủy dẫn đến bệnh thiếu máu. Trong thực tế, những người đồng hợp về gen đột biến thường bị chết khi sinh ra hoặc từ 3 tháng đến 2 tuổi.

7.2 Đa hình di truyền hemoglobin và ứng dụng trong công tác giống gia súc.

Cấu trúc phân tử các dạng hemoglobin khác nhau, với thành phần các chuỗi polypeptit đa dạng, khác nhau là cơ sở khách quan của hiện tượng đa hình di truyền hemoglobin. Hiện tượng đa hình di truyền hemoglobin phát sinh trước hết là do đột biến, chọn lọc tự nhiên trong quần thể, còn do chọn lọc nhân tạo trong đó có vai trò của dịch gen, tức là sự phân bố đột biến trong quần thể dưới ảnh hưởng của các quá trình di truyền tự động, hình thành các động thái tần số gen khác nhau.

Trên đối tượng bò, phân tích đa hình di truyền hemoglobin đã cho phép xác định các sai khác giữa các giống bò. Người ta đã xác định rằng, kiểu hemoglobin và tần số gen hemoglobin là đặc trưng cho các giống gia súc, có thể sử dụng để tìm hiểu nguồn gốc gia súc, mối quan hệ di truyền giữa các giống, mối quan hệ với các tính trạng năng suất....

Các số liệu thực nghiệm ở nhiều nước trên thế giới và ở Việt Nam đều thừa nhận, kiểu hemoglobin ở gia súc (bò, lợn....) là tính trạng di truyền ổn định. Tính trạng này có bản chất di truyền, không phụ thuộc vào thức ăn, điều kiện chăm sóc, nuôi dưỡng, khí hậu....được di truyền theo qui luật Mendel, từ đó có thể qua genotype, qua biểu hiện của tính trạng này, mà đánh giá, xác định phẩm giống vật nuôi.

8. Di truyền miễn kháng.

8.1 Khái niệm.

Miễn dịch học (Immunology), khoa học nghiên cứu các phản ứng miễn nhiễm. Các kỹ thuật miễn dịch học được ứng dụng có hiệu quả trong nhiều lĩnh vực sinh học và y dược học.

Phản ứng miễn dịch ở các động vật bậc cao được thực hiện do hệ thống phức tạp trong đó có sự tương tác của các tế bào và phân tử đặc hiệu (specific) và không đặc hiệu (non-specific) bảo vệ cơ thể, chống lại các tác nhân gây nhiễm.

Sự miễn dịch cơ thể thu được ngay trong giai đoạn phát triển phôi thai bằng con đường truyền kháng nguyên (miễn dịch chủ động) từ cơ thể mẹ qua nhau thai vào cơ thể con. Ngoài ra động vật sơ sinh còn có thể nhận kháng thể từ sữa đầu của mẹ, những miễn dịch này không được di truyền.

Nếu mầm bệnh bắt đầu nhiễm từ mẹ sang con, sau đó con thu được miễn dịch chủ động, miễn dịch này sẽ thay cho miễn dịch chủ động tạm thời của gia súc non và có thể giữ lại trong thời gian dài.

Khác nhau cơ bản giữa miễn dịch tập nhiễm và sức đề kháng bẩm sinh là miễn dịch tập nhiễm sẽ bị mất đi còn sức đề kháng bẩm sinh thì được di truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác.

8.2 Kháng nguyên (*antigen*).

Hiện tượng miễn dịch liên quan đến phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể.

Kháng nguyên là vật chất mang thông tin di truyền lạ với cơ thể động vật và có khả năng gây ra phản ứng miễn dịch. Kháng nguyên là các chất polymer như: protein, polynucleotide. Kháng nguyên có hai tính chất quan trọng là tính lạ và tính đặc trưng.

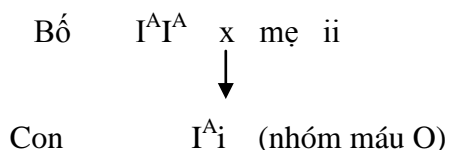
- Tính lạ là thể hiện sự khác nhau về cấu trúc phân tử và những tính chất hóa học giữa kháng nguyên và protein cơ thể.

- Tính đặc trưng là thể hiện ở việc kháng nguyên không chỉ làm xuất hiện kháng thể mà còn có khả năng liên hệ với kháng thể tạo thành phức hệ kháng nguyên – kháng thể, ví dụ: kháng nguyên albumin xâm nhập vào cơ thể thì làm xuất hiện kháng thể anti-albumin.

Tính chất của kháng nguyên phụ thuộc vào các yếu tố như thành phần, trình tự các axit amin trong phân tử protein kháng nguyên, cấu trúc bậc I, bậc II, bậc III, bậc IV trong phân tử và cấu trúc qui định thể kháng

nguyên. Qui định thể kháng nguyên là các nhóm hóa học nằm trên kháng nguyên.

Qua nghiên cứu người ta nhận thấy rằng khi ở bào thai bắt đầu có quá trình tạo máu thì bắt đầu có kháng nguyên. Kháng nguyên không biến đổi không theo thời gian, tuổi tác, giới tính, môi trường và trạng thái sinh lý của cơ thể. Tính di truyền của kháng nguyên được đảm bảo một cách chắc chắn rằng, kháng nguyên có ở cơ thể con thì nhất thiết có ở cơ thể bố hoặc mẹ. Ví dụ:



8.3 Kháng thể (antibody).

Kháng thể là globulin miễn dịch xuất hiện trong máu động vật khi có sự xâm nhập của kháng nguyên, kích thích cơ thể sinh ra và có phản ứng đặc trưng với kháng nguyên.

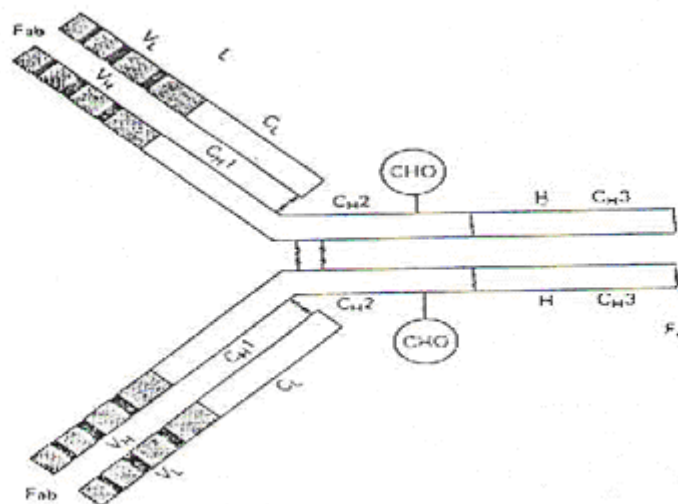
Tính miễn dịch đặc trưng là tính chất đặc trưng của kháng thể, có nghĩa là kháng thể nào sẽ chỉ có phản ứng miễn dịch với kháng nguyên tương ứng. Ví dụ: kháng thể anti-tetanus sẽ chỉ có phản ứng miễn dịch với vi trùng *Tetanus*. Sự hình kháng thể chịu sự kiểm tra của kiểu di truyền cơ thể.

Các cơ chế miễn dịch không đặc hiệu hình thành hàng rào bảo vệ đầu tiên chống lại các vi sinh vật gây bệnh. Nhờ đó sự miễn nhiễm đặc hiệu có đủ thời gian để hình thành. Các sản phẩm của hệ thống miễn nhiễm đặc hiệu của động vật có vú tác động chủ yếu bằng sự kích thích các tế bào hành động không đặc hiệu. Các tương tác phức tạp có thể tổng kết như sau:

Macrophage tác động với tư cách các tế bào trình diện kháng nguyên (antigen-presenting cell) đối với các lymphocyte T hỗ trợ đặc hiệu. Các macrophage này tạo ra IL-1 (interkeuline-1) kích thích sự hoạt hóa của tế bào T_H . Các tế bào T được kích thích bởi kháng nguyên sản sinh ra $IFN\gamma$ (interferon γ), mà $IFN\gamma$ lại làm tăng hoạt tính của macrophage và tế bào sát thủ tự nhiên NK (natural killer cell).

Thêm vào đó, các tế bào T_H sản sinh ra IL-2 làm tăng hoạt tính của các tế bào NK và IL-3, mà nó lại làm tăng số lượng của các thực bào (phagocytic cells) trong máu và làm tăng số lượng cũng như hoạt tính của

các tế bào mỡ trong mô. Tế bào helper T cũng sản sinh ra IL-4 và IL-5 để tăng số lượng và hoạt tính của các tế bào mỡ và eosinophil tương ứng. Các hoạt tính nêu trên có vai trò quan trọng trong sự miễn nhiễm chống lại các dạng ký sinh đa bào. Các immunoglobulin IgC và IgM được hoạt hóa bổ sung nhau và kích thích thực bào (phagocytosis).



Hình 53. Sơ đồ cấu trúc của phân tử IgG

H- Mạch nặng; L- Mạch nhẹ; C- Cố định (constant); Fab- Vùng kháng thể đặc hiệu; V- Biến đổi (variable)

Các kháng thể (antibody), hay immunoglobulin (Ig), là các glucoprotein được tìm thấy trong huyết thanh, trong các chất được tiết ra như nước bọt, nước mắt và dịch tiêu hóa. Phần lớn các phân tử kháng thể được tìm thấy ở phần γ globulin của huyết thanh (serum). Các nhóm immunoglobulin gồm: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD, chúng khác nhau về cấu trúc, sự phân bố và đặc tính sinh học. IgA quan trọng hơn vì là kháng thể được tiết ra bảo vệ bề mặt bên ngoài của cơ thể. IgG và IgM có nhiều trong máu, thực hiện chức năng bảo vệ thể dịch chống vi khuẩn.

Các kháng thể được tiết ra từ các tế bào bắt nguồn từ lymphocyte B, hình thành qua chọn lọc dòng dưới tác động đặc hiệu của xác định thể kháng nguyên (antigenic determinant). Tất cả các phân tử kháng thể đặc hiệu được sản sinh ra do một loại tế bào plasma đặc hiệu. Sự đặc hiệu của kháng thể do trình tự các gốc axit amin của vùng Fab độc nhất cho mỗi kháng thể. Mặt khác, tất cả các phân tử IgG gây nên sự loại bỏ các immunogen bằng một số cách hạn chế sau khi gắn vào chúng. Như vậy,

phân tử kháng thể có 2 phần: phần giống và phần khác với các phân tử kháng thể tạo ở tế bào khác.

Tất cả các loại kháng thể cũng có cấu trúc cơ bản theo mô hình 4 mạch như IgG mặc dầu có nhiều điểm khác nhau ở mạch nặng, mạch nhẹ và mức độ glycosil hóa.

8.4 Cơ sở di truyền của sinh tổng hợp kháng thể.

- Thuyết khuôn: các tác giả Sauder, Pauling và Bernet cho rằng, kháng nguyên tham gia trực tiếp vào sự hình thành polypeptid kháng thể. Có nghĩa là việc tổng hợp mạch polypeptid phải dựa trên khuôn kháng nguyên và dựa vào cấu trúc bậc I, bậc II của kháng nguyên. Tác giả cho rằng, cấu trúc bậc I của kháng thể dựa vào khuôn kháng nguyên nên khi khuôn thay đổi thì sự sắp xếp các axit amin của kháng thể thay đổi. Như vậy là mỗi một kháng nguyên sẽ là một khuôn cho một kháng thể tương ứng. Các tác giả còn giải thích rằng, kháng nguyên liên kết mRNA và ribosome để tạo thành phức hệ Kháng nguyên-mRNA-Ribosome, tạo thành qui định thể kháng nguyên. Bằng chứng cho giả thuyết này là kháng nguyên tồn tại trong suốt thời gian tổng hợp kháng thể và người ta tìm thấy phức hệ trên.

- Thuyết tiền định di truyền: tác giả Erphlis cho rằng, các thông tin di truyền về trung tâm hoạt tính của kháng thể đã có sẵn trước khi kháng nguyên xâm nhập vào và có thể có hai khả năng xảy ra:

+ Khả năng thứ nhất là có thể tồn tại một nhóm tế bào có khả năng tổng hợp kháng thể, còn thông tin của kháng nguyên được thu nhận từ một dòng tế bào khác.

+ Khả năng thứ hai là tế bào của cơ thể là đa tiềm năng về di truyền, tức là có đủ tất cả thông tin di truyền để tổng hợp mọi loại kháng thể, còn kháng nguyên chỉ có tác dụng là tác nhân kích thích cảm ứng ở gen tổng hợp kháng thể hoạt động.

- Quan điểm di truyền học hiện đại: tế bào cơ thể động vật là đa tiềm năng về di truyền và có đủ thông tin để tổng hợp tất cả mọi loại kháng thể. Khi có kháng nguyên xâm nhập vào, thông tin kháng nguyên sẽ kích thích hoạt động của gen điều chỉnh. Các gen điều chỉnh nhận được tín hiệu kích thích sẽ tổng hợp nên các protein-enzym và các protein-enzym này sẽ tác động vào các gen cấu trúc tương ứng, chuyển các gen này sang trạng thái hoạt động để tổng hợp nên các kháng thể có khả năng gây phản ứng miễn dịch với kháng nguyên tương ứng.

8.2 Di truyền sức kháng bệnh ở vật nuôi.

8.2.1 Định nghĩa.

Sức đề kháng bệnh là khả năng không cảm nhiễm bệnh và khả năng không mắc bệnh của cơ thể. Sức đề kháng bệnh có thể do bẩm sinh hoặc tập nhiễm.

Sức đề kháng phụ thuộc vào các loài động vật. Một số loài động vật không bị cảm nhiễm đối với một số bệnh, trong khi một số loài khác lại rất dễ mắc bệnh đó. Động vật máu lạnh không bị lây nhiễm những bệnh truyền nhiễm của động vật máu nóng. Trâu, bò không cảm nhiễm những bệnh chảy nước mũi, thiếu máu truyền nhiễm ở ngựa, nhưng tất cả động vật thuộc bộ móng guốc, ngón chân đều cảm nhiễm đối với bệnh lở mồm, long móng.

Tính cảm nhiễm của động vật còn phụ thuộc vào cơ thể động vật. Trong cùng một đàn gia súc xảy ra dịch bệnh vẫn có những con không bị bệnh.

Sức đề kháng còn liên quan đến khả năng thích nghi với điều kiện sống của động vật. Ví dụ, gia súc vùng nhiệt đới không có sức đề kháng cao đối với những bệnh do nguyên sinh động vật và những bệnh truyền nhiễm địa phương so với các gia súc vùng ôn đới. Gia súc vùng ôn đới thì khả năng đề kháng đối với các bệnh ngoài da, vi sinh vật đường máu, cầu trùng... kém hơn so với gia súc vùng nhiệt đới.

Di truyền sức kháng bệnh ở vật nuôi là một vấn đề rất phức tạp mà cho đến nay vẫn chưa được sáng tỏ. Có nhiều trường hợp khả năng kháng một bệnh cụ thể được xác định là đơn gen, song nhiều trường hợp lại do nhiều gen kiểm soát.

Sức đề kháng với bệnh được hiểu theo nghĩa rộng là tính không cảm nhiễm với bệnh của gia súc cũng như khả năng chống chịu với các yếu tố bất lợi của môi trường. Khi theo dõi một đàn gà bị bệnh New castle, bị bệnh bạch cầu hay một bệnh nào khác đều có thể thấy rằng trong lúc đối với những con này bệnh có tác động gây chết thì những con khác bệnh lại hoàn toàn vô hại (vẫn sinh trưởng, phát triển bình thường). Con bò này bị bệnh viêm vú nhưng con khác vẫn bình thường. Nhiều biến dị di truyền đối với sức kháng bệnh và các vật ký sinh ở vật nuôi, có thể kết luận rằng biến dị di truyền này là có ở hầu hết các vật nuôi.

8.2.1 Sức đề kháng bệnh ở đại gia súc.

Người ta đã phát hiện trường hợp có sức đề kháng cao đối với bệnh viêm vú ở dòng gia súc cho sữa. Các nghiên cứu của Legate, Grinells (1952) đã xác nhận rằng, bò cái có sức đề kháng cho ra những bê cái miễn cảm với bệnh viêm vú ít hơn 33% so với bò cái không có sức đề kháng. Những sai khác này xuất hiện do kết quả chọn lọc hàng loạt, chỉ tiến hành một thế hệ và chỉ theo con mẹ mà không tính đến các ảnh hưởng di truyền của bố đối với bê cái về tính miễn cảm đối với bệnh này.

Những kết quả trên đã dẫn đến lần đầu tiên chọn giống theo sức đề kháng với viêm vú. Mặt khác còn chứng minh rằng, chọn lọc cũng đã làm giảm được tính miễn cảm với bệnh viêm vú hơn bất kỳ một tổ hợp nào của các biện pháp thú y, phòng bệnh.

Sức đề kháng bệnh viêm vú cũng có liên quan đến việc chọn lọc đực giống. Reid (1954) đã phát hiện ra trong số bê Jersey là con gái của một số đực giống trong đàn bò của Trường Đại học Tổng hợp Pennsylvania, bệnh viêm vú được phát hiện trên 14% trường hợp và trong số con gái của một đực giống là 55% các trường hợp. Tác giả cũng nhấn mạnh rằng, bên cạnh các đặc điểm mang tính chất di truyền thì các biện pháp phòng bệnh để nâng cao phẩm chất sữa cũng cần thiết. Các yếu tố như: chuồng bần, thiếu đệm lót, thời tiết ẩm và các điều kiện không thuận lợi khác cũng làm tăng tính miễn cảm đối với bệnh viêm vú ở gia súc cho sữa.

Bảng 6. Mọi quan hệ giữa sức đề kháng bệnh viêm vú ở mẹ và con

Tác giả và địa điểm nghiên cứu	Số đàn nghiên cứu	Mẹ miễn cảm với bệnh viêm vú		Mẹ có sức đề kháng với bệnh viêm vú		Mức giảm tỷ lệ miễn cảm ở thế hệ con của bò cái có sức đề kháng (%)
		Số lượng	con gái miễn cảm	Số lượng	Con gái miễn cảm	
Ward (Kentecbe)	20	86	54,4	109	56,0	38
Ward (Manavat)	15	128	81,3	171	54,4	33
Legate & Grinell (Bắc crolina)	11	114	53,0	82	35,0	34

8.2.2 Sức đề kháng di truyền đối với lợn

Tính miễn cảm của lợn đối với các bệnh có sự khác nhau về bản chất. Khi xảy ra dịch lợn, ta thấy có nhiều con không mắc bệnh, mặc dù chúng có tiếp xúc với con bệnh và mức độ mắc bệnh ở từng con có khác nhau. Có thể quan sát thấy hiện tượng tương tự ở các bệnh không truyền nhiễm (chúng cảm lạnh, bệnh đường tiêu hóa, bệnh ký sinh trùng...). Người ta đã bỏ nhiều công sức để nghiên cứu chọn lọc các dòng đề kháng bệnh và thu được một số kết quả.

Kết quả nghiên cứu của các tác giả Mỹ và Canada cho thấy, lợn bị viêm mũi thường giảm tăng trọng so với những con khỏe. Trong quá trình chọn lọc theo hướng nâng cao sức đề kháng đối với bệnh viêm mũi người ta đã tạo được giống lợn Lakomb.

Người ta cũng đã có thông báo về việc tạo các dòng lợn có sức đề kháng đối với bệnh viêm phế quản (*Bronchopneumonia*), tạo ra các dòng lợn có khả năng kháng bệnh viêm vú, bệnh bạch cầu tăng....

Người ta đã biết rằng, nguyên nhân chủ yếu của bệnh ỉa chảy ở lợn con là do các chủng *E. coli* có kháng nguyên bề mặt tế bào được gọi là K.88. Nhưng không phải tất cả lợn con đều dễ nhiễm *E. coli* K.88. Đặc biệt chỉ những con có thụ quan (receptor) K.88 ở trên thành ruột là miễn, còn những con không có thụ quan là kháng. Người ta cũng đã xác định được rằng, sự có mặt hay vắng mặt của thụ quan K.88 được xác định bởi 2 alen thuộc cùng 1 locus trên nhiễm sắc thể thường. Alen xác định sự có mặt của thụ quan là trội hoàn toàn so với alen xác định sự vắng mặt của thụ quan này (Gibbons et al 1977).

8.2.3 Sức đề kháng di truyền đối với các bệnh ở gia cầm.

Gà mái bị bệnh ỉa phân trắng do *Salmonella pullorum* thường truyền vi khuẩn này cho gà con qua lòng đỏ trứng. Những gà con bị bệnh bằng con đường này có thể chết hoặc sống sót được tùy thuộc vào việc chúng có gen miễn hay kháng và phụ thuộc vào điều kiện môi trường. Mặt khác gà con bị bệnh cũng còn được truyền qua phân của những gà khác.

Các giống gà khác nhau có sức kháng tự nhiên với bệnh này ở các mức khác nhau. Ở các giống gà như Rode Island đỏ hay Plymouth, tính miễn cảm với bệnh cao hơn ở gà Leghorn trắng từ 3-5 lần. Kết quả lai giữa dòng kháng và miễn đã chứng minh rằng, sức kháng bệnh ỉa phân trắng ở gà không phải là kết quả của hiện tượng miễn dịch thụ động mà do gen qui định.

Robert và Card (1935) đã chứng được rằng, có thể nâng cao sức đề kháng tự nhiên của gà Leghorn trắng đối với bệnh ia phân trắng do vi khuẩn bằng cách chọn giống thích hợp. Tác giả đã truyền qua miệng tất cả những gà con thí nghiệm bằng tác nhân gây bệnh ia phân trắng. Bằng cách ấy thì phần lớn gà con đều bị nhiễm tự nhiên bệnh này. Trong hai đàn gà Leghorn trắng được chọn giống theo sức đề kháng bệnh ia phân trắng trong 4 năm liền, thu được tỷ lệ gà sống sót sau tiêm truyền là 61-70%. Trong khi đó, nhóm gà đối chứng không được tiến hành chọn giống như trên thì tỷ lệ gà con sống sót sau nhiễm bệnh (cũng bằng một liều như trên) chỉ còn 28%. Một dòng thứ ba được chọn giống trong thời gian suốt 9 năm liền, thu được tỷ lệ gà sống sót sau khi tiêm truyền cùng liều là 74%. Kết quả khác nhau giữa các dòng có sức đề kháng cao và không có sức đề kháng đã chứng minh được sức đề kháng cao của dòng thứ nhất không phải là kết quả của một hiện tượng miễn dịch thụ động nào cả (truyền từ mẹ sang gà con thông qua trứng). Sức đề kháng cao đối với bệnh ia phân trắng được truyền lại cho đời sau là do gà mái và gà trống thuộc dòng có sức đề kháng. Từ đó có thể tin chắc rằng, sức đề kháng cao với bệnh ia phân trắng do vi khuẩn ở gà là do gen qui định.

Kết quả nghiên cứu của các tác giả còn cho thấy, ảnh hưởng của môi trường đối với sự di truyền sức kháng bệnh. Gà con mới nở yêu cầu nhiệt độ chuồng nuôi là 35°C. Một số gà có sức đề kháng với *Salmonella pullorum* sẽ chết, nếu nuôi ở nhiệt độ 30°C. Mặt khác, nhiều gà con mắc cảm với bệnh ia phân trắng do vi khuẩn ở nhiệt độ 35°C lại trở nên có sức đề kháng, nếu tăng nhiệt độ chuồng nuôi lên 40°C.

8.2.3 Sức đề kháng đối với nội ký sinh.

Steward và cộng sự thuộc Trường Đại học Caliphonia đã tiến hành nghiên cứu sức đề kháng đối với sự nhiễm giun *Ostertagia circumcinta* ở cừu non thuộc giống Romni-Mac và cừu non thuộc giống khác, bao gồm từng nhóm 4 con một. Tất cả đều được nuôi trong cùng một đàn. Người ta đã xác định được mức độ nhiễm giun ở một số cừu non. Qua theo dõi, các tác giả nhận thấy, cừu Romni-Mac về chỉ tiêu này thấp hơn so với cừu thuộc giống khác. Điều này chứng tỏ, giống Romni-Mac có sức đề kháng cao với giun.

Warick và cộng tác viên đã tiến hành chọn giống dê theo sức đề kháng chống lại giun tròn (*Haemonchus contortus*). Khi cho lai hai kiểu khác nhau giữa những dê đực có sức đề kháng đối với giun ký sinh với những dê cái không được chọn lọc, các tác giả đã thu được kết quả sau.

Bảng 7. Kết quả thí nghiệm về sức đề kháng đối với giun ký sinh ở dê.

	Thí nghiệm	Đối chứng
Dê đực có sức đề kháng x Dê cái không được chọn lọc	71	33
Dê đực có khả năng đề kháng x Những con gái chưa được kiểm tra của mẹ có sức đề kháng	83	31

Tác giả Rozenbe đã tạo được dòng gà có sức đề kháng cao đối với cầu trùng *Coccidium* bằng cách chọn giống qua nhiều thế hệ. Kết quả lai giữa các dòng có sức đề kháng cao với các dòng chưa chọn lọc cho thấy, sức đề kháng của gà đối với *Coccidium*, cũng như sức đề kháng đối với các bệnh khác có sự di truyền trung gian.

8.2.4 Sức đề kháng đối với ngoại ký sinh trùng.

Giữa các động vật tồn tại những sai khác di truyền về sức kháng bệnh không chỉ đối với ký sinh trùng bên trong mà cả đối với ngoại ký sinh trùng. Sức đề kháng đối với các ký sinh trùng hút máu có ý nghĩa quan trọng đối với nhiều nước trên thế giới, mà sâu bọ, ve bét là vật môi giới truyền các loại sinh vật gây bệnh. Trong các bệnh bị lây nhiễm qua vật chủ trung gian, đặc thù là bệnh sốt vàng da *fevrisflava*, bệnh sốt rét cơn ở người. Các nghiên cứu ở những nước thuộc các vùng khác nhau trên thế giới, người ta đã xác định được rằng, bò Zebu có sức đề kháng cao đối với bọ bét và do đó cũng có sức đề kháng cao đối với bệnh do bọ bét truyền cao hơn các giống gia súc có sừng thuộc nguồn gốc Châu Âu. Bonsma nghiên cứu bệnh tràn dịch tim, gây nên do *Richeketsia* và được truyền qua bọ bét *Ambliomma hebracium*. Kết quả cho thấy, có sự sai khác giữa bò Zebu và bò Châu Âu về sức đề kháng với bệnh tràn dịch tim và đồng thời có sự sai khác thời gian sống của những bò bị bệnh. Các nghiên cứu cũng cho thấy, bò lai F₁ do giao phối giữa bò Châu Âu với các giống bò Zebu khác cũng thể hiện tính trội thuộc về bố, mẹ có sức đề kháng cao.

Người ta đã thừa nhận rằng, ưu thế lai này của giống bò Zebu là do khả năng bẩm sinh. Bonsma đã tính được số lượng ve bét trên ba vùng khác nhau trên cơ thể giống bò Châu Âu cao hơn bò Zebu là 2,2; 2,9 và 7,5 lần.

Từ lâu, người ta biết rằng bò *Bos indicus* kháng ve tốt hơn bò *Bos taurus* được nuôi trong những điều kiện giống nhau. Các con lai giữa bò Brahman với bò Anh và giữa bò Africander với bò Anh chỉ nhiễm khoảng 40% số ve mà các giống bò Anh bị nhiễm (Seifert, 1971).

Cùng với biến dị giữa các giống, còn có biến dị di truyền về sức kháng về ở trong cả hai giống *Bos indicus* và *Bos taurus* cũng như các con lai giữa chúng, hệ số di truyền này rất cao (80%). Điều này chỉ ra rằng, chọn lọc trong quần thể sẽ rất có hiệu quả.

Bảng 8. Tỷ lệ mắc bệnh tràn dịch tim ở bê trước 30 tháng tuổi trong thí nghiệm của Bonsma (1944) tại trại Transvaal.

Giống	Số bê được sinh ra	Tỷ lệ loại thải (%)	Tuổi trung bình của bê bị bệnh
Bò Zebu thuần chủng	246	5,3	11
Bò $\frac{3}{4}$ máu Zebu và $\frac{1}{4}$ máu Châu Âu	86	7,0	8
Bò $\frac{1}{2}$ máu Zebu và $\frac{1}{2}$ máu Châu Âu	397	10,2	6
Bò thuần chủng Châu Âu	28	60,7	5

9. Kỹ thuật di truyền.

Kỹ thuật tái tổ hợp DNA thường được gọi là kỹ thuật di truyền, bao gồm một tập hợp gồm nhiều kỹ thuật, trong đó vai trò hàng đầu thuộc về các tư duy và phương pháp của di truyền vi sinh vật, sinh học phân tử, hóa học của axit nucleic.

Về hình thức, kỹ thuật di truyền được ra đời vào năm 1972-1973, khi nhóm nghiên cứu của Berg, Boyer và Cohen ở Mỹ đã tạo nên phân tử DNA tái tổ hợp invitro từ ba nguồn nguyên liệu khác nhau: nguyên bộ gen của virus SV40 gây ung thư ở khỉ, một phần bộ gen của phage trung hòa λ và các gen của operon lactose của vi khuẩn *E. coli*.

Vào năm 1973-1974 nhóm Cohen, Helinski, Boyer lần đầu tiên đã nhận được các sản phẩm có hoạt tính từ DNA tái tổ hợp. Nhóm này đã giải quyết vấn đề lắp ghép và tạo dòng DNA. Sau đó nhiều nhà khoa học đã lao vào các thí nghiệm lắp ghép gen và nhanh chóng thu được các kết quả có ứng dụng thực tiễn. Kỹ thuật di truyền được thực hiện qua nhiều công đoạn phức tạp và tinh vi, có thể nói là một công nghệ. Từ đó thuật ngữ công nghệ sinh học (biotechnology) ra đời.

9.1 Các enzyme hạn chế.

Vào năm 1962, V. Arber lần đầu tiên chứng minh rằng có những enzyme đặc biệt hoạt động trong tế bào vi khuẩn, chúng có khả năng phân biệt DNA “của mình” với DNA “lạ” của phage. Các enzyme này “hạn

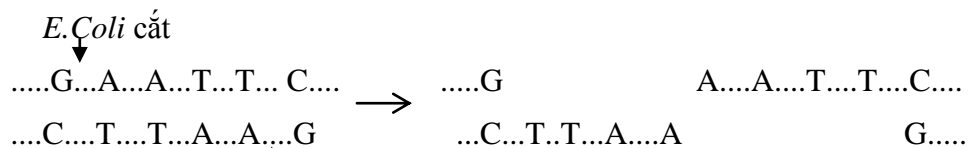
chế” khả năng sinh sản của phage trong tế bào vi khuẩn bằng cách phân hủy chúng một cách đặc hiệu, do đó được gọi là enzyme hạn chế.

Các enzyme phân cắt DNA được gọi là nuclease, gồm 2 loại: exonuclease và endonuclease. Exonuclease cắt DNA từ hai đầu mút còn endonuclease cắt DNA ở giữa phân tử. Các enzyme hạn chế cắt phân tử DNA ở giữa một cách đặc hiệu nên được gọi là endonuclease hạn chế (restriction).

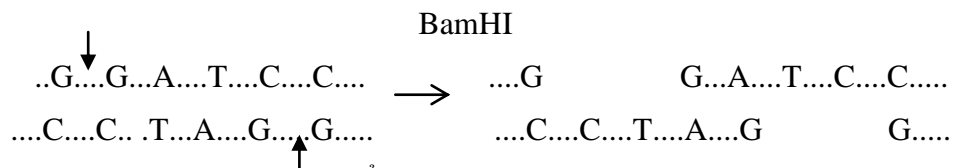
Vào năm 1970, H. Smith và các cộng sự đã tách được restriction endonuclease đầu tiên từ vi khuẩn *Haemophilus influenzae* được gọi là HinfII. Ngay sau đó không lâu đã xác định được rằng, phần lớn các loài vi khuẩn có hệ thống chuyên biệt hạn chế biến đổi (restriction-modification system) để bảo vệ tế bào khỏi sự xâm nhập của DNA lạ.

Các restriction được chia làm 3 nhóm: các enzyme nhóm II thường được sử dụng trong kỹ thuật di truyền. Các enzyme nhóm II này nhận biết DNA mạch kép ở những trình tự nhận biết và cắt DNA ở ngay trong trình tự này. Các trình tự nhận biết này thường có 4-6 cặp nucleotide đối xứng đảo ngược nhau, được gọi là các palindrom. Mỗi restriction endonuclease có trình tự nhận biết đặc trưng.

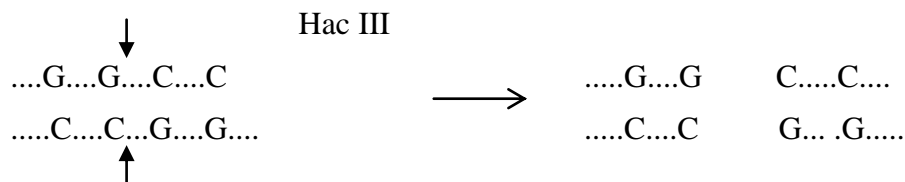
- Restriction endonuclease E.co RI (từ *E.coli*) có trình tự nhận biết:



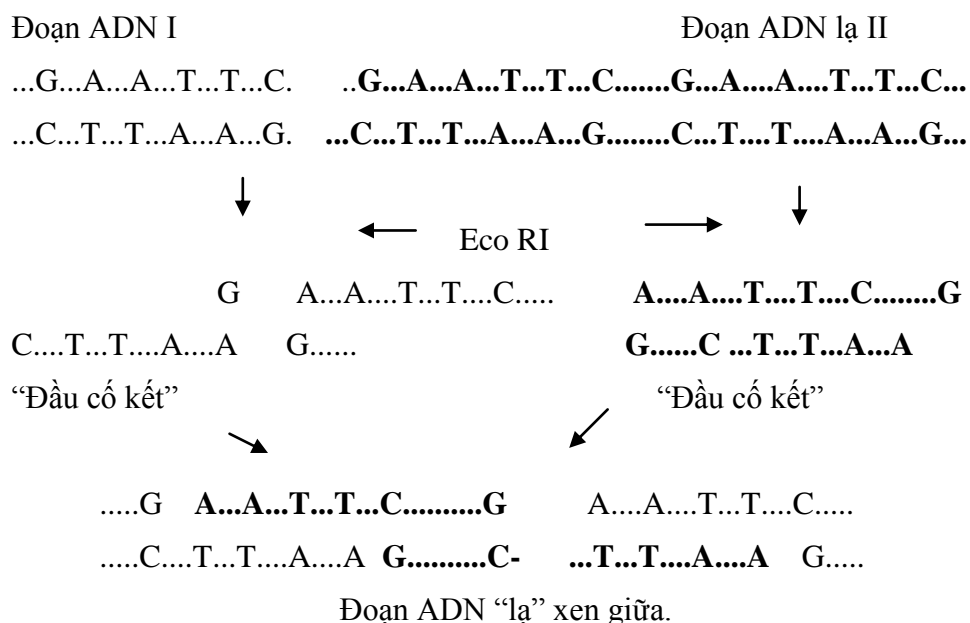
- Enzyme BamHI (ở vi khuẩn *Bacillus amyloliquefaciens*)



- Enzyme HaeIII (từ vi khuẩn *Haemophilus aegyptius*) có trình tự:



Các enzyme Eco RI và BamHI khi cắt DNA mạch kép tạo ra các đầu lách “cổ kết” hay “dính” vì các base bổ sung dễ bắt cặp để gắn lại với nhau như lúc chưa bị cắt rời. Nếu có 1 đoạn DNA lạ cùng bị cắt bởi 1 loại enzyme hạn chế, ví dụ enzyme Eco RI thì nhờ các đầu “cổ kết” đoạn DNA lạ, có thể xen vào giữa như sau:



Tính chất quan trọng này được dùng để cắt -ghép các gen.

Ngày nay có hơn 1200 loại restriction endonuclease đã được phát hiện, chúng có khả năng cắt DNA tổng cộng với hơn 120 trình tự nhận biết khác nhau.

9.2 Thu nhận gen.

Vào năm 1969, Becwitt, Shapiro đã thông báo về công trình tách gen từ operon lactose của *E. coli* dựa trên cơ sở kết hợp các phương pháp di truyền vi sinh cổ điển với các phương pháp vật lý để tách và lai các phân tử DNA.

Có thể thu nhận gen để thực hiện kỹ thuật tái tổ hợp DNA bằng ba phương pháp khác nhau.

9.2.1. Tách các đoạn DNA từ bộ gen.

Đây là phương pháp được sử dụng rộng rãi ngay từ buổi đầu của sự phát triển kỹ thuật tái tổ hợp DNA. Toàn bộ DNA của một sinh vật

được cắt đoạn nhỏ dài khoảng 15.000 đến 20.000 cặp base bằng lacc cơ học hay bởi các enzyme endonuclease rồi gắn vào các vector mang gen, tạo plasmid tái tổ hợp. Phương pháp này mang tính chất mò mẫm, vì nguyên bộ gen hoặc toàn bộ phân tử DNA của các sinh vật khác nhau chứa rất nhiều gen. Tuy nhiên, phương pháp này hiện nay vẫn đang được sử dụng có hiệu quả trong việc lập ngân hàng hay thư viện gen của các sinh vật, được gọi là ngân hàng DNA bộ gen (genomic DNA libraries).

9.2.2 Tổng hợp gen bằng phương pháp hóa học.

Năm 1969, Khorana đã thực hiện việc tổng hợp nhân tạo gen. Đó là gen mã hóa việc tổng hợp t.RNA, vận chuyển aminoacid alanine ở nấm men, không có hoạt tính. Về sau cũng chính nhóm trên đã tổng hợp được gen đầu tiên có hoạt tính, đó là gen mã hóa cho chất ức chế t.RNA vận chuyển của tyrosine ở *E. coli*, có chiều dài khoảng 200 cặp nucleotid.

Muốn tổng hợp gen bằng phương pháp hóa học phải biết trình tự nucleotid của gen. Kỹ thuật di truyền đã nhanh chóng đưa các gen được tổng hợp hóa học vào sản xuất. Lần đầu tiên vào năm 1977, K. Itakura và Boyer đã thành công trong việc tổng hợp nhân tạo gen, mã hóa cho việc tổng hợp hormone somatostatin của động vật có vú biểu hiện trong tế bào *E. coli*. Sau đó các nòi *E. coli* mang gen tổng hợp hóa học được tạo ra, chúng sản sinh hormone tăng trưởng ở người và các hormone peptid như: bradikinin, angiotensin, neuropeptid leuencephalin.... Các tế bào *E. coli* mang plasmid tái tổ hợp đã tạo ra khoảng 1 triệu phân tử hormone trong tế bào. Polypeptid này đã được thử nghiệm kiểm định ở chuột bị lấy mất tuyến yên, hoàn toàn tương tự hormone tăng trưởng ở người.

Phương pháp tổng hợp hóa học gen cũng được sử dụng để tạo nòi vi khuẩn sản sinh ra insulin, hormone quan trọng để chữa bệnh tiểu đường. Gen insulin được tổng hợp ở dạng gồm từ 40 đoạn oligonucleotid, mỗi đoạn căn bản có 6 nucleotid. Các đoạn này được ligase nối lại thành một cấu trúc thống nhất. Các mạch kép polynucleotid có chiều dài 271-286 cặp base được gắn vào plasmid. Plasmid được gắn thêm đoạn gen điều hòa. Tế bào chứa plasmid mang gen insulin tổng hợp ra proinsulin, sau đó được xử lý hóa học để biến thành insulin có hoạt tính. Phân tử insulin cấu tạo gồm 2 mạch A (21 amino acid) và mạch B (30 amino acid). Hai mạch được nối lại với nhau nhờ cầu nối disulfit.

9.2.3 Sự tổng hợp gen từ m.RNA của gen tương ứng.

Phương pháp thu nhận gen bằng cách cắt toàn bộ DNA của một sinh vật có nhiều bất lợi. Thứ nhất, số đoạn DNA được tạo ra có thể rất

lớn, như ở động vật có vú có thể lên đến hàng triệu đoạn và phải cần có hàng triệu dòng vi khuẩn mang các đoạn DNA này, trong số đó có những dòng chứa các đoạn DNA tương tự nhau, trùng lặp. Thứ hai, phần lớn DNA của eucaryotae bậc cao dư thừa, tức không mã hóa cho việc tổng hợp protein, những đoạn này làm tốn công vô ích khi tạo dòng.

Trong thực tiễn của kỹ thuật di truyền, người ta sử dụng rộng rãi phương pháp thứ ba, đó là tạo gen từ các mRNA thông tin của chúng. Phương pháp này dựa vào quá trình phiên mã ngược nhờ sử dụng enzyme phiên mã ngược (reverse transcriptase, có tên là DNA-polymerase phụ thuộc RNA. Enzyme này lần đầu tiên được phát hiện khi nghiên cứu sao chép RNA của restovirus gây ung thư. Nó có khả năng tổng hợp nên DNA một mạch, được gọi là c-DNA từ khuôn mRNA hoặc từ một đoạn polyribonucleotid tổng hợp hóa học. Nhờ enzyme reverse transcriptase này có thể tổng hợp hầu như tất cả các gen, miễn có mặt mRNA của gen đó. Các c-DNA mạch đơn có thể được biến thành mạch kép nhờ DNA-polymerase và được gọi là c-DNA kép. Đoạn c-DNA kép này được gắn vào plasmid và biến nạp vào vi khuẩn để tạo dòng c-DNA.

Các dòng DNA của bộ gen là những đoạn ngẫu nhiên của trình tự nucleotid dọc theo DNA của sinh vật và hầu như không phụ thuộc vào loại tế bào nào dùng để lấy DNA. Ngược lại các dòng c-DNA chỉ chứa những đoạn gen đã được phiên mã ra mRNA, vì tế bào của các mô đã được biệt hóa sẽ có các loại mRNA khác nên ngân hàng c-DNA nhận được sẽ phụ thuộc vào kiểu tế bào được sử dụng.

Sử dụng ngân hàng c-DNA sẽ có nhiều ưu thế:

- Thứ nhất, các dòng c-DNA chứa trình tự mã hóa liên tục của một gen.
- Thứ hai, nhiều protein được tổng hợp với số lượng lớn do những tế bào chuyên hóa và như vậy trong các tế bào này mRNA của protein giàu đó sẽ có tỷ lệ cao và ngân hàng c-DNA được tạo ra từ tế bào này sẽ có nhiều c-DNA mã hóa cho các protein tương ứng. Sự dồi dào c-DNA một vài loại nào đó làm giảm nhẹ đáng kể việc xác định đúng dòng mong muốn từ ngân hàng gen.

Bằng con đường này đã nhận được và tạo dòng các gen mã hóa cho globuline ở người, động vật và chim, cho globuline thủy tinh thể mắt bò, cho ovalbumine (protein lòng trắng trứng), cho fibroin tơ tằm. Phương pháp này cũng được sử dụng để thu nhận, tạo dòng và biểu hiện các gen interferon của người trong các vi khuẩn.

Hiện nay số lượng ngân hàng gen của DNA nhiễm sắc thể và c-DNA không ngừng tăng, chúng là nguồn cho các nhà nghiên cứu, đồng thời một số đáng kể trở thành hàng hóa. Năm 1972 các nhà khoa học Mĩ đã tạo được các dòng c-DNA của 2375 gen bộ não người.

9.3 Các vector chuyển gen.

9.3.1 Thế nào là vector chuyển gen.

Để thu nhận gen dưới dạng tinh sạch với hàm lượng lớn, người ta phải tạo dòng (clon) gen đó. Tạo dòng cơ bản là nhằm gắn trình tự DNA cần thu nhận vào một vector. Vector là những phân tử DNA thường có dạng vòng, mang nhiều đặc tính, trong đó có khả năng tự tái sinh, tồn tại độc lập, mượn bộ máy tế bào vi khuẩn để tạo ra nhiều bản sao khác giống hết vector ban đầu và mang được gen cần chuyển. Các vector chuyển gen cần thỏa mãn các điều kiện sau:

- Có các trình tự khởi sự sao chép để có thể tự sao chép, tồn tại độc lập.
- Có các trình tự nhận biết, nơi mà các enzyme hạn chế nhận biết để cắt hở làm chỗ ráp các gen lạ vào. Các trình tự này thường nằm xa điểm xuất phát sao chép để tránh bị cắt nhầm.
- Các trình tự điều hòa tạo điều kiện thuận lợi cho sự phiên mã gen lạ.
- Đảm bảo cho sự di truyền bền vững của DNA tái tổ hợp ở dạng độc lập hay gắn vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ.
- Có các gen đánh dấu để dễ dàng phát hiện ra chúng hoặc các gen lạ gắn vào.
- Vector phải có kích thước càng nhỏ càng tốt để có thể thu nhận một lượng DNA tối đa. Hơn nữa kích thước DNA càng nhỏ thì càng dễ xâm nhập vào tế bào vi khuẩn và càng được sao chép nhanh và hiệu quả.

Ngoài ra chúng còn phải có những đặc tính bổ sung khác để cho việc tạo dòng thuận lợi.

- Chứa các gen làm vô hiệu hóa đoạn DNA không mong muốn bị gắn vào.
- Có nhiều bản sao để tách được ra khỏi tế bào với số lượng lớn và đảm bảo sự khuếch đại của gen gắn vào.
- Có các trình tự nucleotid cần thiết cho sự biểu hiện của gen như promotor, trình tự gắn với ribosome để dịch mã.

Không có vector toàn năng cho chuyển gen, mà cần có sự chọn lựa tùy đối tượng, tùy kích thước đoạn gen được tạo dòng. Các vector chuyển gen có 5 ứng dụng:

- Tạo dòng và khuếch đại trình tự của DNA (nhiều bản sao giống nhau).
- Nghiên cứu sự biểu hiện của một đoạn trình tự DNA.
- Đưa gen vào các tế bào vi sinh vật (vi khuẩn, nấm men) hay các động vật, thực vật.
- Sản xuất RNA.
- Sản xuất protein từ gen được tạo dòng.

Do có tầm quan trọng nên các vector chuyển gen được hoàn thiện không ngừng, từ những vector plasmid tự nhiên ở vi khuẩn vào đầu những năm 70, tiến tới nhiều loại vector phức tạp, đến nhiễm sắc thể nhân tạo.

9.3.2 Các vector chuyển gen là plasmid.

Plasmid là những đoạn DNA ngắn (2-5), dạng vòng, nằm ngoài nhiễm sắc thể, được tìm thấy lần đầu tiên ở vi khuẩn. Sự sao chép plasmid không phụ thuộc vào sự sao chép nhiễm sắc thể vi khuẩn. Mỗi vi khuẩn có thể chứa hàng trăm plasmid. Ở các sinh vật procaryotae, các vector chuyển gen thường được sử dụng là các plasmid của các vi khuẩn và các bacteriophage. Chúng được cải tiến để ngày càng thuận tiện hơn cho kỹ thuật tái tổ hợp DNA, qua 3 thế hệ.

- Thế hệ thứ nhất là các plasmid tự nhiên, đến nay hầu như không còn sử dụng nữa.
- Thế hệ thứ hai.

Là các plasmid được cấu tạo phức tạp hơn. Một trong những plasmid được sử dụng rộng rãi nhất là ρ BR 322. Plasmid này có khả năng sao chép độc lập với tế bào E. coli và tồn tại với số lượng trung bình 20-30 bản sao cho mỗi tế bào. Trong các điều kiện nuôi cấy nhất định có thể khuếch đại có chọn lọc làm tăng số plasmid đến hơn 1000 bản sao cho một tế bào.

- Thế hệ thứ ba

Là các plasmid đa năng và chuyên dụng. Các plasmid vi khuẩn có thể chứa đoạn DNA lạ có chiều dài khoảng 3-10 kb.

9.3.3 Các vector chuyển gen là phage λ .

Phage (thực khuẩn thể) là virus xâm nhiễm và làm phân giải vi khuẩn. Các phage, virus của vi khuẩn cũng được dùng làm vector chuyển gen vì nhiều phage có khả năng thực hiện tải nạp mang gen từ tế bào vi khuẩn cho sang tế bào vi khuẩn nhận. Vector phage λ . được sử dụng rộng rãi để lập ngân hàng gen, vì nó mang được đoạn DNA lớn hơn, dễ bảo quản, dễ tách ra để phân tích. Ưu điểm nổi bật của phage là chúng có hệ thống tự động xâm nhập và sinh sản trong tế bào vi khuẩn với hiệu quả cao hơn nhiều so với việc đưa plasmid vào tế bào vi khuẩn bằng biến nạp. Tuy nhiên các thao tác ban đầu có phức tạp hơn.

9.4 Tạo plasmid tái tổ hợp (tạo dòng).

Bước tiếp theo của kỹ thuật di truyền là gắn các đoạn DNA hay các c-DNA vào vector chuyển gen để tạo nên plasmid có mang DNA lạ được gọi là plasmid tái tổ hợp hay khảm.

9.4.1. Các bước tạo dòng.

- Chọn và xử lý vector: Việc chọn và xử lý vector phụ thuộc vào nhiều yếu tố: kích thước các đoạn DNA muốn tạo dòng, mục đích tạo dòng.... Trước hết, vector được cắt ở vị trí xác định bằng 1 enzyme giới hạn. Sau đó 2 đầu chỗ nối cắt được xử lý để chúng không thể nối trở lại; vecto chỉ có thể trở lại dạng vòng ban đầu khi hai đầu chỗ nối cắt được nối với một trình tự DNA lạ.

- Xử DNA cần tạo dòng (insert): Trước hết cần chọn lọc sơ khởi các DNA có kích thước gần nhau và tương ứng với loại vector đã chọn. Sau đó hai đầu của các đoạn DNA này cần được xử lý cho phù hợp với hai đầu chỗ nối cắt của vector (bằng cách cắt bằng cùng một enzyme giới hạn để tạo các đầu so le tương hợp).

- Tạo vecto tái tổ hợp: Vecto và DNA cần tạo dòng đã được xử lý sẽ được trộn chung theo một tỷ lệ nhất định với sự tham gia của ligase. Ligase xúc tác phản ứng nối vector với insert tạo thành vector tái tổ hợp (recombinant). Vector tái tổ hợp sau đó sẽ được tinh sạch qua tách chiết và tủa.

- Chuyển vector tái tổ hợp vào tế bào chủ: Nhằm mục đích sử dụng bộ máy của tế bào chủ để sao chép vector tái tổ hợp thành một số lượng lớn bản sao. Tùy thuộc loại tế bào chủ, người ta sử dụng kỹ thuật chuyển thích hợp.

- Phát hiện dòng cần tìm trong thư viện gen: Sự phát hiện dòng cần tìm, người ta sử dụng một mẫu dò, mẫu dò có thể là một kháng thể đặc trưng cho protein mã hóa bởi gen cần tìm hoặc một trình tự DNA bổ sung cho gen cần tìm.

Do bản chất của DNA cần tạo dòng (được gọi là insert) người ta phân biệt hai loại thư viện gen: thư viện bộ gen (genomic library) và thư viện c-DNA (cDNA library).

9.4.2. Thư viện bộ gen (genomic library).

Thư viện bộ gen của một sinh vật là tập hợp tất cả các trình tự DNA cấu thành bộ gen đã được gắn vào vector. Về nguyên tắc, thư viện bộ gen có thể được thiết lập từ bất kỳ loại tế bào nào của sinh vật nghiên cứu. Để thiết lập thư viện bộ gen, trước hết người ta tách chiết DNA bộ gen của sinh vật đó, cắt DNA thành những đoạn có kích thước xác định bằng các enzyme giới hạn; rồi gắn các đoạn này vào vector tạo vector tái tổ hợp. Các vector tái tổ hợp sau đó được đưa vào tế bào chủ. Các tế bào chủ sẽ được nuôi cấy trên môi trường đặc và hình thành nên những dòng (clone).

Ứng dụng của thư viện bộ gen là khi cần:

- Giải mã thông tin di truyền chứa trong bộ gen, đặc biệt là cấu trúc intron-exon của một gen xác định.

- Tạo dòng các trình tự DNA không mã hóa nằm cạnh các gen và đóng vai trò quyết định trong sự điều hòa biểu hiện của gen.

9.4.3. Thư viện cDNA.

Thư viện cDNA là tập hợp các bản sao cDNA từ tất cả các mRNA của một tế bào. Như vậy, không giống với thư viện bộ gen, thư viện cDN được thiết lập từ một loại tế bào xác định trong đó gen nghiên cứu phải được biểu hiện thành mRNA. Thư viện cDNA mang tính đặc trưng tế bào rất cao vì ở mỗi loại tế bào của cơ thể đã biệt hóa chỉ có một số gen được phiên mã thành mRNA. Việc thiết lập thư viện cDNA có một số điểm đặc trưng: Trước hết mRN của tế bào được tách chiết rồi được chuyển thành cDNA nhờ enzyme phiên mã ngược (Reverse transcriptase).

Thư viện cDNA được thiết lập chủ yếu nhằm mục đích nghiên cứu sự biểu hiện của 1 gen xác định cùng với những vấn đề liên quan như sự điều hòa biểu hiện của gen, mối tương tác giữa các gen trong quá trình sống...

Thư viện cDNA cũng được hình thành theo những bước sau:

- Việc chọn vector tương đối dễ dàng do kích thước của các cDNA ít khi lớn hơn 9 kb. Ngày nay người ta thường sử dụng các plasmid thể hệ thứ ba. Plasmid được cắt bởi enzyme giới hạn và hai đầu mỗi cắt được loại phosphate để tránh hiện tượng tự nối trở lại.

- Bên cạnh đó, mRNA được tách chiết từ tế bào và được chuyển thành cDNA nhờ enzyme phiên mã ngược. Vector tái tổ hợp được hình thành do sự kết hợp giữa plasmid và cDNA.

- Sau đó, vector tái tổ hợp được đưa vào tế bào vi khuẩn bằng phương pháp biến nạp (transformation). Sau khi tế bào vi khuẩn đã nhận các vector tái tổ hợp, người ta lại nuôi chúng trong môi trường lỏng một thời gian ngắn trước khi đem trải chúng trên môi trường đặc. Các dòng vi khuẩn sẽ hình thành nên những khuẩn lạc trên mặt thạch.

9.5 Biến nạp DNA tái tổ hợp vào tế bào.

Sau khi được DNA tái tổ hợp, việc tiếp theo là biến nạp, đưa nó vào lại tế bào. Có thể đưa vào bằng nhiều cách.

9.5.1 Hóa biến nạp.

DNA tái tổ hợp (plasmid mang đoạn gen lạ) được ủ với số lượng lớn tế bào vi khuẩn chưa có plasmid. Đối với vi khuẩn có thể xử lý CaCl_2 lạnh, kèm sốc nhiệt độ (42°C trong 2 phút) thì DNA tái tổ hợp xâm nhập vào tế bào nhiều hơn.

Đối với tế bào động vật có vú, để thực hiện biến nạp có thể dùng phương pháp hấp thụ DNA qua trung gian phosphate calcium. Phương pháp này cho hiệu quả thấp.

9.5.2 Điện biến nạp.

Sử dụng dòng điện cao thế cục bộ theo xung có thể làm tế bào hấp thụ DNA nên được gọi là điện biến nạp. Lúc đầu phương pháp này được sử dụng ở động vật có vú, về sau cho cả tế bào thực vật. Hiệu quả biến nạp cao, có thể gấp 10-20 lần so với xử lý hóa chất, đoạn DNA biến nạp có kích thước lớn. Tuy nhiên tỷ lệ tế bào chết cũng đáng kể (50-70%). Khó khăn khác là phải chế dụng cụ chuyên biệt tạo dòng điện có điện thế cao cho một khối lượng xử lý nhỏ.

9.5.3 Vi tiêm.

Đối với các tế bào động vật có vú (thường là các hợp tử) có thể tiêm thẳng DNA tái tổ hợp vào tế bào. Đây là phương pháp thông dụng có hiệu quả trong chuyển gen ở tế bào động vật có vú, tạo các động vật nhiễm gen.

9.5.4 Bắn DNA vào tế bào.

Đối với các tế bào thực vật, muốn thực hiện biến nạp phải tạo tế bào trần (mất vách tế bào) thì DNA mới ngấm được vào trong. Việc tạo tế bào trần không đơn giản, tốn công sức và thường sức sống tế bào giảm, khó phân chia để tự tái sinh. Để khỏi phải làm các công việc trên, phương pháp bắn DNA tái tổ hợp trực tiếp vào tế bào thực vật đã được sử dụng. Các hạt kim loại (đường kính khoảng 4 micromet) mang DNA hoặc RNA được bắn với tốc độ nhanh xuyên thủng vách tế bào đưa vào trong. Phương pháp này có nhiều ưu thế và được dùng nhiều trong các thực vật nhiễm gen. Ngoài ra còn nhiều phương pháp khác đưa DNA tái tổ hợp vào trong tế bào:

- Sử dụng màng lipid bao DNA để đưa vào tế bào.
- Dùng tinh trùng mang DNA tái tổ hợp xâm nhập vào tế bào trứng.
- Các vector virus tự động thực hiện tải nạp đưa DNA tái tổ hợp vào tế bào với hiệu suất cao hơn nhiều nên cũng được sử dụng rộng rãi ở cả tế bào người, động vật và thực vật.

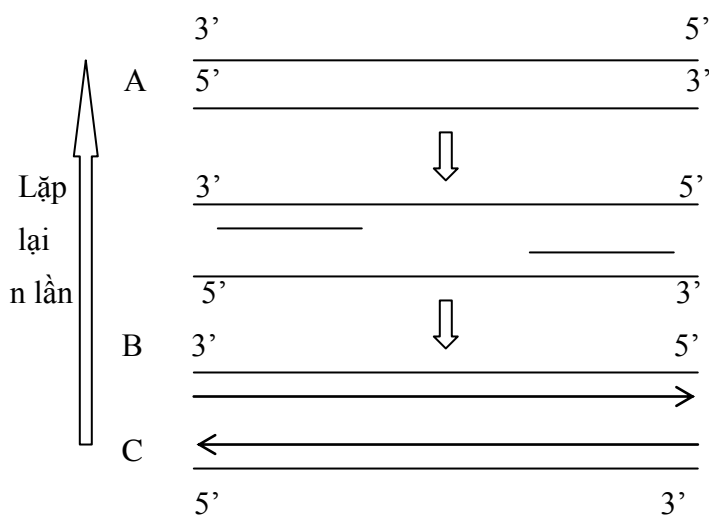
9.6 Phương pháp PCR.

Vào năm 1985, K. Mullis đã phát hiện ra phương pháp đơn giản khuếch đại nhanh nhiều bản sao của các đoạn DNA mà không cần sử dụng tế bào. Kỹ thuật này được gọi là polymerase chain reaction (PCR), được hiểu là phản ứng polymer dây chuyền. Sự khuếch đại bằng PCR được thực hiện invitro trong một ống nghiệm plastic nhỏ, khác hẳn với sự tạo dòng các đoạn DNA invitro được gắn vào plasmid của tế bào vi khuẩn hay nấm men. Kỹ thuật này được ứng dụng nhanh và có ý nghĩa cách mạng đối với sự phát triển của sinh học phân tử và kỹ thuật di truyền. Thực chất đây là phương pháp tạo dòng invitro không cần có sự hiện diện của tế bào.

9.6.1. Nguyên tắc thực hiện.

PCR là quá trình khuếch đại của một trình tự DNA đặc hiệu invitro được xúc tác bởi enzyme DNA polymerase. Sự khuếch đại này nói chung được thực hiện nhờ các chu trình nhiệt lặp lại (có thể đến 35

lần) gồm: đun nóng (95°C) trong vòng 30 giây đến 1 phút. Đây là giai đoạn biến tính; Làm nguội ($37 - 65^{\circ}\text{C}$), trong vòng 30 giây đến 1 phút, cho phép các môi bắt cặp với khuôn, đây là giai đoạn lai; Ủ lâu ở 72°C giúp cho DNA polymerase hoạt động tổng hợp. Thời gian tùy thuộc vào độ dài trình tự DNA cần khuếch đại, thường kéo dài 30 giây đến nhiều phút, đây là giai đoạn tổng hợp hay kéo dài (elongation). Trong dung dịch có các primer (đoạn môi) P_1 và P_2 , mỗi loại sẽ bắt cặp bổ sung với đầu mạch đơn tương ứng. Như vậy, một mạch kép DNA, sau phản ứng do DNA polymerase thực hiện thành 2 mạch DNA kép và có thể thực hiện chu trình khuếch đại mới 2 thành 4, 4 thành 8 theo cấp số nhân.



Hình 54. Sơ đồ nguyên tắc của phương pháp PCR

Một chu kỳ gồm 3 bước: A. Biến tính (denaturation): tách rời hai mạch của phân tử DNA. B. Lai (hybridization): cặp môi chuyên biệt cho một trình tự DNA xác định được cho bắt cặp với khuôn. C. Kéo dài (elongation): DNA-polymerase tổng hợp mạch mới kể từ môi đã bắt cặp. Chu kỳ này được lặp lại n lần.

Phản ứng được thực hiện trong ống plastic nhỏ, có mẫu DNA, primer và DNA polymerase, được gắn vào hệ thống nung nóng và điều chỉnh thành chu kỳ nung nóng, làm nguội theo chương trình định sẵn, gọi là thermocycler (máy PCR).

9.6.2 Các ứng dụng của phương pháp PCR.

- Sản xuất mẫu dò.

Trước đây để sản xuất mẫu dò, một công cụ không thể thiếu trong các phương pháp lai, người ta phải tiến hành qua nhiều giai đoạn-tạo dòng, nuôi cấy để tạo nhiều bản sao, đánh dấu mẫu dò.... Với phương pháp PCR, người ta có thể sản xuất nhanh một lượng mẫu dò đánh dấu khi thực hiện phản ứng với cặp mồi chuyên biệt và các nucleotid đánh dấu.

- Khuyếch đại số lượng RNA.

Do Taq polymerase không hoạt động trên RNA nên người ta sử dụng kỹ thuật phối hợp RT-PCR (Reverse transcriptase-PCR). Trước hết RNA được chuyển thành c-DNA nhờ enzyme phiên mã ngược. Sau đó cDNA được khuyếch đại nhờ Taq polymerase. Người ta có thể sử dụng Taq polymerase cho cả hai giai đoạn.

- Định lượng bằng phương pháp PCR.

Thường được sử dụng để nghiên cứu các trình tự (DNA hay RNA) có số lượng bản sao rất thấp, không thể định lượng bằng phương pháp lai phân tử cổ điển. Về nguyên tắc người ta có thể xác định số lượng bản mẫu ban đầu qua tính toán dựa vào sản phẩm cuối cùng, số chu kỳ đã thực hiện.... Nhưng trong thực tế, người ta chỉ có thể định lượng tương đối một trình tự đích, tức là so sánh hàm lượng của nó trong nhiều nguồn khác nhau.

9.6.3 Các hạn chế của phương pháp PCR.

- Kích thước của trình tự cần khuyếch đại.

Trừ vài trường hợp rất cá biệt, phương pháp PCR không hoạt động được với những đoạn DNA lớn hơn 3kb. Việc sử dụng PCR đối với các độ dài dưới 1,5 kb cho kết quả tốt.

- Sự ngoại nhiễm.

Vấn đề đặc biệt cấp thiết trong những ứng dụng về chẩn đoán, dự phòng... vì hậu quả có thể rất nghiêm trọng. Nguồn ngoại nhiễm lớn nhất có thể là các sản phẩm khuyếch đại của những lần trước. Người ta đã chứng minh được rằng việc mở nắp các ống nghiệm sau mỗi lần khuyếch đại trong một khoảng không gian kín như phòng thí nghiệm sẽ khiến cho các phân tử đã được khuyếch đại thoát ra khỏi ống nghiệm bay lơ lửng trong không khí, bám vào tường, cửa, thiết bị dụng cụ.... rồi nhiễm vào các phản ứng tiến hành sau đó.

- Các sai sót gây ra do Taq polymerase.

Sự sao chép bởi Taq polymerase cho tỷ lệ sai khá cao (10^{-4}), có nghĩa là cứ 1000 nucleotid thì enzyme gắn sai 1 nucleotid. Đặc tính này không nghiêm trọng nếu ta chỉ cần xem xét kích thước hay sự có mặt của một sản phẩm khuếch đại, nhưng có ý nghĩa lớn nếu cần xác định chính xác trình tự nucleotid của DNA.

10. Kỹ thuật gene trong chăn nuôi.

Các phương pháp chọn giống và lai tạo cổ điển đã góp phần hình thành nên những giống vật nuôi, cây trồng đa dạng và có hiệu quả kinh tế cao. Kỹ thuật gen phát triển trên nền tảng những hiểu biết cơ bản về sinh học của vật nuôi và cây trồng, bao gồm hai hướng chính:

- Phân tích di truyền các vật nuôi và cây trồng nhờ các DNA marker (các trình tự đánh dấu trên bộ gen liên kết với các tính trạng cần quan tâm).

- Tạo các sinh vật chuyển gen.

Các DNA marker được sử dụng vào việc hình thành bản đồ gen với vị trí các gen mã hóa cho các tính trạng mong muốn ở vật nuôi và cây trồng nhằm phục vụ cho chiến lược lai tạo và chọn giống và lai tạo theo phương pháp cổ điển. Việc tạo sinh vật chuyển gen cho phép đưa vào vật nuôi, cây trồng các tính trạng quý mà không phải qua quá trình chọn lọc lâu dài; hơn nữa phương pháp này không chỉ giúp cải thiện các đặc tính sẵn có mà còn có thể bổ sung những đặc tính hoàn toàn mới ở sinh vật. Việc hình thành các thư viện gen là một biện pháp bảo tồn có hiệu quả nguồn gen tự nhiên trên thế giới.

10.1 Sử dụng các DNA marker trong phân tích di truyền.

Trong phương pháp chọn giống cổ điển, các chỉ tiêu chọn lọc thuộc về kiểu hình, dựa vào các chỉ tiêu hình thái, sinh hóa... các chỉ tiêu này thường không ổn định, chịu ảnh hưởng rất mạnh của các yếu tố môi trường. Sử dụng các thành phần của kiểu gen, các DNA marker, để chọn giống sẽ cho phép bỏ qua các biến động không di truyền đồng thời theo dõi được các biến động di truyền không thể hiện ra kiểu hình (vì nằm trong các đoạn không mã hóa của gen). Phương pháp này có nhiều ưu điểm, nó cho phép sử dụng nguồn gen mà không làm ảnh hưởng đến sự điều hòa biểu hiện tự nhiên của gen. Các DNA marker đặc biệt có ích khi các tính trạng mong muốn: có tính di truyền thấp, khó định lượng (tính kháng bệnh...), biểu hiện theo giới tính, biểu hiện muộn trong quá trình

sống (năng suất trứng, sữa...), Các DNA marker được sử dụng vào nhiều mục đích:

- Dùng để đánh giá mức độ biến động di truyền trong một quần thể vật nuôi. Nếu mức biến động di truyền này còn cao thì cần phải tiếp tục chọn lọc để ổn định dòng.

- Cho phép đánh giá sự khác biệt di truyền giữa hai cá thể bố mẹ, Sự khác biệt này càng lớn thì tính dị hợp tử ở thế hệ con càng cao.

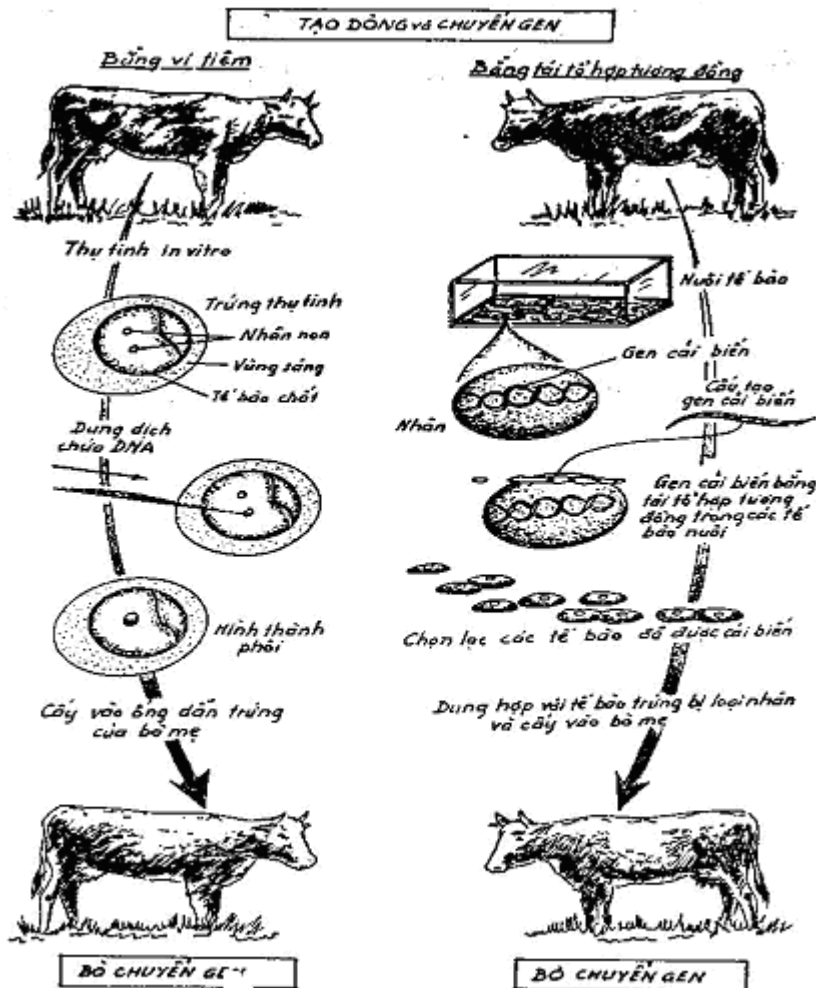
- Theo dõi hiệu quả của một chương trình chọn giống định hướng đối với một alen đặc biệt.

- Xác định các marker ở các locus có liên kết chặt chẽ với các tính trạng mong muốn, dùng trong chọn giống số lượng, đặc biệt đối với các tính trạng khó chọn lọc.

Các DNA marker được sử dụng trong lai tạo và chọn giống ở nhiều gia súc và gia cầm và thường có liên quan đến các tính trạng năng suất, chất lượng thịt, sức sống cao, thích nghi Ví dụ, người ta đã xác định được locus RN qui định chất lượng thịt ở lợn nằm trên nhiễm sắc thể 15, cách marker S0088 18cM (Milan và cộng sự, 1985); còn tính trạng kháng bệnh marek ở gà thì có liên quan đến các marker nhóm máu thuộc MHC (Major Histocompatibility Complex- phức hợp chính của tương hợp mới)... Gần đây người ta đã phát hiện và sử dụng các marker VNTR để phân biệt hai loài hào có giá trị kinh tế *Ostrea edulis* và *Dicentrarchus labax* đồng thời để xác định một gen kháng kí sinh trùng ở *O. edulis*

10.2 Tạo các động vật chuyển gen.

Về nguyên tắc việc chuyển gen qui định các tính trạng mong muốn vào động vật nuôi không có gì khác so với liệu pháp gen ở người. Tuy nhiên, nếu ở người việc tác động lên các tế bào sinh dục không được phép thực hiện thì ngược lại ở vật nuôi đó lại là mục đích cần đạt nhằm tạo ra các dòng động vật chuyển gen (transgenic animal). Các động vật chuyển gen, ban đầu sẽ truyền cho thế hệ con cháu những đặc tính mới hoặc những đặc tính đã biến đổi của mình. Các phương pháp dùng chuyển gen vào tế bào động vật rất đa dạng và thay đổi theo đối tượng tế bào.. Đối với các tế bào sinh dưỡng, người ta dùng phương pháp chuyển gen phức hợp DNA-calcium phosphate hay nhờ các vector virus. Đối với tế bào sinh dục, sử dụng phương pháp vi tiêm là tối ưu. Ví dụ, ở động vật có vú, người ta vi tiêm DNA vào trứng đã thụ tinh rồi cấy trở lại vào mẹ mang.



Hình 55. Hai phương pháp tạo động vật chuyển gen

Bên trái: Phương pháp vi tiêm

Bên phải: Dùng tái tổ hợp tương đồng

Vấn đề lớn nhất của các phương pháp chuyển gen này là không kiểm soát được vị trí gắn xen của các gen được đưa vào.

Động vật chuyển gen được sử dụng vào nhiều mục đích.

- Dùng làm mô hình thí nghiệm cho việc nghiên cứu các bệnh ở người. Người ta đã tạo được các dòng chuột chuyển gen mang nhiều rối

loạn di truyền cùng kiểu với các rối loạn di truyền ở người. Việc nghiên cứu các mô hình chuột chuyển gen cho phép hiểu rõ cơ chế sinh hóa của các rối loạn di truyền tương ứng. Hơn nữa việc thử nghiệm các liệu pháp trên người nhất thiết phải thông qua bước thử nghiệm trên mô hình động vật.

- Dùng để sản xuất protein với số lượng lớn. Người ta ghép gen mong muốn với promotor của một gen mã hóa cho protein của sữa (casein) rồi chuyển vào cừ. Sản phẩm của gen là một protein được sản xuất với số lượng lớn và được tiết ra từ sữa cừ. Đây mới là mô hình thử nghiệm.

- Tạo chủng mang những đặc tính quý. Ví dụ, để tăng sản xuất len ở cừ, người ta chuyển các gen tổng hợp cysteine của vi khuẩn vào cừ, cysteine rất cần cho sự hình thành keratin của len.

- Việc chuyển gen đã góp phần đáng kể vào việc chọn giống động vật vì:

- + Giúp đưa nhiều tính trạng mới vào động vật mà trước đó chưa hề có.

- + Đưa tính trạng có sẵn vào động vật nhanh hơn các phương pháp chọn giống thông thường (lai và chọn lọc).

Một đóng góp quan trọng của chuyển gen ở động vật là tạo các động vật mang gen bệnh của người làm mô hình nghiên cứu.

10.2.1 Các phương pháp chuyển gen.

- Vi tiêm là phương pháp thông dụng hơn cả. DNA được bơm thẳng vào hợp tử ở giai đoạn sớm.

- Sử dụng các vector là virus như: SV40, BPV (bovine papillomavirus, retrovirus).

- Phương pháp dùng tế bào cuống phôi (stem embryonic cells hay stem cell insertion). Trong phôi có những tế bào căn bản có khả năng phân chia mạnh, người ta lấy tế bào này ra, thực hiện biến nạp rồi cấy trở lại vào phôi.

- Phương pháp dùng tinh trùng như vector mang gen. Nếu bơm DNA vào tinh trùng thì nó có thể đưa DNA vào tế bào trứng dễ dàng khi thụ tinh.

10.2.2 Các tính trạng được chuyển gen.

- Các tính trạng năng suất.

Người ta có thể chuyển gen để tăng cường các tính trạng năng suất như: khả năng chuyển đổi thức ăn cao, tăng chất lượng của thịt, sữa, lông và giảm mỡ.

Nhưng các tính trạng kinh tế hầu như đều có sự di truyền đa gen, nên việc chuyển gen rất khó. Người ta hy vọng trong tương lai khi xác định trình tự nucleotide các bộ gen động vật, mới cải thiện được những tính trạng này.

- Gen hormone tăng trưởng.

Nhiều gen mã hóa cho hormone tăng trưởng được chuyển vào các vật nuôi với hy vọng giúp tăng trọng nhanh. Hiệu quả đã thấy rõ ở chuột: chuột được mang gen hormone tăng trưởng của người lớn gấp đôi chuột bình thường. Ở lợn, người ta đã tạo được dòng mang gen mã hóa hormone tăng trưởng của bò. Lợn này có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn, mỡ ít hơn, nhưng lại mang nhiều bệnh.

- Kích thích sự tăng trưởng cơ.

Ở gà có gen cSKI kích thích sự tạo cơ tăng mạnh hơn bình thường, giảm mỡ. Người ta đã đưa gen này vào lợn sẽ tạo nên giống có nhiều thịt và ít mỡ hơn. Những con lợn này có chân yếu và cơ trơn yếu nên cần được tiếp tục nghiên cứu để hoàn thiện.

- Tăng năng suất tạo lông (ở cừu).

Trong thành phần của lông có nhiều axit amin, chủ yếu là cystein chứa lưu huỳnh (S) tạo nhiều cầu disulfite nên protein của lông có độ chắc cao. Nếu cho vào thức ăn nhiều cystein thì năng suất lông cừu không cao, vì khi thức ăn vào cơ thể qua đường ruột sẽ bị các vi sinh vật tiêu thụ nên lông không hấp thụ được. Khi tiêm cystein vào dưới da thì sản lượng lông tăng lên nhiều (vì không bị vi sinh vật tiêu thụ).

- Sản xuất các protein trị liệu và cơ quan để ghép.

Từ năm 1990, nhiều nơi trên thế giới đã thành công trong việc chuyển gen người vào cừu, dê, bò. Đã thu được các chế phẩm như: t-pA (tissue plasmonogen activator), α -1- antitrypsin. Hiệu quả của việc chuyển gen cho đến nay còn rất thấp, thường chỉ khoảng 1/1000 hợp tử được bơm DNA.

10.2.3 Thay gen đúng mục tiêu (gen targeting).

Một trong những thành tựu đáng kể trong chuyển gen ở động vật là sử dụng tái tổ hợp tương đồng để thay gen đúng mục tiêu trong tế bào. Kỹ thuật này cho phép thay gen hoặc alen đúng vị trí mong muốn trên nhiễm sắc thể của tế bào và được thực hiện ở phôi chuột vào giai đoạn túi phôi (blastocyst).

10.2.4 Tạo giống từ phôi.

Phương pháp tạo giống đại gia súc chuyển gen như: bò, dê, cừu từ phôi đã cho nhiều kết quả và hiện được sử dụng rộng rãi.

Có hai cách đưa gen lạ vào hợp tử: vi tiêm và dùng tái tổ hợp tương đồng.

- Vi tiêm.

Tế bào trứng của bò được thụ tinh *in vitro*. Ở giai đoạn 2 nhân non (pronucleus), thực hiện vi tiêm đưa DNA gen lạ vào. Phôi tạo ra được cấy vào ống dẫn trứng của bò mẹ mang thai.

- Phương pháp dùng tái tổ hợp tương đồng.

Các tế bào được nuôi và đưa DNA mang gen dùng thay đổi mục tiêu vào dịch nuôi tế bào. Sau đó, tiến hành chọn lọc các tế bào được thay thế và cho dung hợp với tế bào trứng đã bị loại nhân. Tế bào dung hợp được cấy vào bò mẹ.

10.2.5 Siêu bào noãn và cấy truyền phôi.

Siêu bào noãn và cấy truyền phôi là hai công nghệ nhưng gắn liền vào một quá trình nhằm gây rụng trứng đồng loạt ở vật cho phôi (donor), tạo thành nhiều hợp tử và thu được nhiều phôi chất lượng cao, sau đó đưa các phôi đã được tạo ra vào những cá thể khác, vật nhận phôi (recipient), mà phôi vẫn sống, phát triển bình thường trên cơ sở trạng thái sinh lý, sinh dục của vật nhận phôi phù hợp với trạng thái tương ứng của vật cho phôi (đồng pha).

Quá trình kỹ thuật của siêu bào noãn và cấy truyền phôi bao gồm các công đoạn chủ yếu sau đây:

- Chọn vật cho phôi.

Kỹ thuật này nhằm khai thác triệt để tiềm năng di truyền của các con cái cao sản. Do vậy, việc chọn con vật cho phôi (những con vật xuất sắc) là vô cùng quan trọng. Công việc này ảnh hưởng tới năng suất cũng như chất lượng phôi thu được.

Các con vật cho phôi được chọn từ đàn hạt nhân, có nhiều đặc điểm tốt, biết rõ nguồn gốc.

- Chọn vật nhận phôi.

Thường không cần căn cứ vào phẩm giống, năng suất vì những con vật này không có vai trò gì trong kiểu gen của đời sau nên chúng chỉ là những vật “ mang thai hộ”. Tuy nhiên chúng có ảnh hưởng lớn đến việc tiếp nhận phôi và nuôi con, do vậy khi chọn vật nhận phôi phải đảm bảo các tiêu chuẩn: không mang bệnh tật, sinh trưởng, phát triển bình thường, sinh lý sinh sản bình thường.

- Tạo chu kỳ động dục cho vật cho và vật nhận phôi.

Vật cho và nhận phôi trước khi đưa vào sử dụng gây siêu bài noãn và gây động dục đồng pha phải biết được ngày biểu hiện động dục trước đó để ấn định ngày gây siêu bài noãn ở vật cho và gây động dục đồng pha ở vật nhận phôi.

- Thu hoạch phôi.

Vật cho phôi khi đã được siêu bài noãn, phối giống thì sau một thời gian nhất định sẽ được gội rửa ống dẫn trứng để lấy phôi khỏi cơ thể được gọi là thu hoạch phôi. Có thể dùng phương pháp phẫu thuật hoặc không qua phẫu thuật.

Phôi được coi là tốt nếu kích thước đảm bảo, có dạng cầu đều, nguyên vẹn, các tế bào xếp đều, liên kết chặt chẽ, có độ sáng đều giữa các phần.

Phôi sau khi được đánh giá, phân loại có thể đem cấy truyền cho vật nhận phôi đồng pha (cấy phôi tươi) hay đem đông lạnh để sau sử dụng (cấy phôi đông lạnh).

Khi đã có phôi và vật nhận phôi thì tiến hành cấy truyền phôi, tức là đem phôi đang ở bên ngoài vào cơ thể vật nhận.

Nguyên tắc là phôi được lấy ra ở vị trí nào thì được cấy trả đúng vào vị trí đó nhờ súng cấy phôi.

Vật nhận phôi sau khi cấy một thời gian, tùy thuộc từng loài được khám để đánh giá kết quả. Đối với bò, thời gian này là 3 tháng.

- Lợi ích của siêu bài noãn và cấy truyền phôi trong công tác giống gia súc.

+ Cho phép phổ biến và nhân nhanh các giống có năng suất cao, có các đặc tính quý hiếm ra sản xuất trên cơ sở khai thác triệt để tiềm năng di truyền của những con cái cao sản thông qua siêu bài noãn, lấy phôi, bảo quản phôi và cấy truyền.

+ Cho phép nâng cao cường độ chọn lọc, đẩy mạnh hiệu quả của công tác giống trên cơ sở tăng nhanh tiến bộ di truyền.

+ Nâng cao khả năng sinh sản cũng như các sản phẩm thịt, sữa.

Siêu bài noãn và cấy truyền phôi đã làm tăng số con sinh ra từ những con cao sản, làm thay đổi nhanh chóng chất lượng đàn giống, khắc phục một số trường hợp sinh sản không bình thường ở gia súc cao sản.

+ Hạn chế đến mức tối thiểu số lượng gia súc làm giống, từ đó giảm các chi phí khác đi kèm như: chuồng trại, vật tư, nhân lực....

+ Giúp dễ dàng, thuận lợi trong việc xuất nhập khẩu, vận chuyển, trao đổi con giống giữa các nước, các vùng.

+ Đây cũng là phương pháp giữ gìn, bảo tồn vật liệu di truyền (phương pháp ex situ).

+ Siêu bài noãn và cấy truyền phôi hạn chế một số dịch bệnh và nâng cao khả năng chống chịu bệnh, khả năng thích nghi của con vật ở môi trường mới do phần lớn bệnh của gia súc không lây qua phôi.

+ Siêu bài noãn và cấy truyền phôi tạo cơ sở để thúc đẩy nghiên cứu và phát triển một số ngành khoa học có liên quan như: phôi sinh học, quá trình tiếp nhận, đào thải phôi cho sinh lý, hóa sinh, miễn dịch, lai ghép phôi, chuyển gen cho sinh học phân tử, chế tạo vacxin chống bệnh, thay gen xấu cho y học...

Câu hỏi ôn tập chương 3

1. Hãy nêu cơ sở chứng minh gián tiếp và chứng minh trực tiếp vai trò của DNA trong di truyền?
2. Hãy trình bày thành phần hoá học và cấu trúc phân tử DNA? Sao chép DNA?
3. Hãy trình bày thành phần hoá học và cấu trúc phân tử RNA? Các loại RNA và chức năng của chúng?
4. Hãy trình bày quá trình phiên mã (tổng hợp RNA)?
5. Thế nào là mật mã di truyền? Đặc trưng của mật mã di truyền?
6. Hãy trình bày quá trình sinh tổng hợp protein?
7. Tại sao phải có cơ chế điều hoà biểu hiện của gen? Thành phần của một operon theo Jacob và Monod?
8. Hãy trình bày hoạt động điều hoà của operon lactoza?
9. Thế nào là đột biến gen? Nguyên nhân đột biến gen? Phân loại đột biến gen?
10. Các hình thức biểu hiện của đột biến gen và các dạng kiểu hình của đột biến gen?
11. Thế nào là kháng nguyên? Tính chất của kháng nguyên? Thế nào là kháng thể?
12. Cơ sở di truyền của sinh tổng hợp kháng thể?
13. Hãy cho biết một số trường hợp về sức đề kháng bệnh ở vật nuôi?
14. Thế nào là kỹ thuật di truyền? Enzym hạn chế? Các phương pháp thu nhận gen?
15. Thế nào là vectơ chuyển gen? Các loại vectơ chuyển gen?
16. Các bước tạo dòng? Phương pháp tạo dòng trong chuyển gen?
17. Các phương pháp biến nạp DNA tái tổ hợp vào tế bào?
18. Phương pháp PCR? Ứng dụng của PCR và những hạn chế của phương pháp?
19. Phương pháp chuyển gen động vật? Các tính trạng được chuyển gen ở động vật?

Chương 4

DI TRUYỀN HỌC QUẦN THỂ.

Các chương trước chúng ta đã nghiên cứu các qui luật di truyền ở từng cá thể, nhưng trong thực tế sinh vật luôn tồn tại và phát triển thành đàn, bầy hoặc quần thể. Trong quần thể, do tác động của các yếu tố: đột biến, chọn lọc (tự nhiên, nhân tạo), thay đổi số lượng cá thể, các hình thức giao phối, sinh sản khác nhau của các cá thể trong quần thể sẽ dẫn đến những thay đổi về di truyền trong quần thể. Chương này chúng ta sẽ nghiên cứu về cấu trúc di truyền quần thể, các biến động về di truyền do ảnh hưởng của các nhân tố tác động vào quần thể. Những thay đổi về di truyền quần thể qua các thế hệ được ứng dụng trong chọn lọc và nhân giống động vật.

1. Khái niệm về quần thể.

1.1 Định nghĩa quần thể.

Quần thể là tập hợp gồm nhiều cá thể cùng loài, sống trong một khu vực địa lý nhất định, có cơ chế thích ứng chung đối với các điều kiện sống cụ thể và tạo thành một hệ thống di truyền hoàn chỉnh, có khả năng duy trì sự ổn định về cấu trúc của mình và có khả năng tham gia vào những biến đổi của quá trình tiến hóa.

Các quần thể được hình thành dưới ảnh hưởng của các điều kiện sinh tồn trên cơ sở mối quan hệ tương tác giữa ba nhân tố tiến hóa.

Các giống động vật và thực vật trong nông nghiệp cũng là những quần thể nhưng được tạo nên bởi chọn lọc nhân tạo.

Quần thể sinh học (biological population) là một nhóm bản chất sống tồn tại trong các tập đoàn hữu cơ được xác định về mặt không gian và thời gian, R. Pearl, 1937. Quần thể sinh học lớn nhất là một hệ sinh thái. Quần thể sinh học khác với các quần thể bằng các đặc tính bản chất sống, có giới hạn không gian và thời gian.

Quần thể di truyền (genetical population) là quần thể sinh học cùng loài. Như vậy, quần thể di truyền có những giới hạn:

- Không gian
- Thời gian
- Cùng loài: để giao phối cho đời con hữu thụ.

Quần thể Mendel (Mendelian population) là một quần thể di truyền có sức sống như nhau. Như vậy quần thể Mendel bao hàm tính đồng nhất về di truyền, ví dụ một dòng thuần.

Dòng thuần là tập hợp gồm nhiều cá thể cùng loài có mức độ giống nhau cao về kiểu di truyền và kiểu hình.

Quần thể địa phương là nhóm các cá thể của một loài sinh sống trong một khu vực giống nhau.

1.2 Vốn gen.

Là toàn bộ thông tin di truyền, tức là một hệ đầy đủ tất cả các alen của tất cả các gen được hình thành trong quá trình tiến hóa của quần thể, có tại một thời điểm nhất định.

1.3 Tần số gen và tần số kiểu gen.

Để phân tích di truyền các quần thể, cần xác định được tần số các alen (gen) hiện có để có thể phát hiện được những biến đổi theo thời gian, tức là trong quá trình tiến hóa của sinh vật. Nếu xét quần thể có 2 gen alen là A và a thì quần thể sẽ có 3 dạng kiểu gen AA, Aa và aa.

- Tần số tuyệt đối kiểu gen: Là số cá thể có các kiểu gen khác nhau trong quần thể.

Kiểu gen đồng hợp trội: Số cá thể có kiểu gen đồng hợp trội, ký hiệu là D

Kiểu gen dị hợp: Số cá thể có kiểu gen dị hợp, ký hiệu là H

Kiểu gen đồng hợp lặn: Số cá thể có kiểu gen đồng hợp lặn, ký hiệu là R

Ta có $D + H + R = N$ (số cá thể của quần thể).

- Tần số tương đối kiểu gen: Là tỷ lệ các cá thể có kiểu gen khác nhau trong tổng số cá thể của quần thể.

Kiểu gen đồng hợp trội, ký hiệu là $d = \frac{D}{N}$

Kiểu gen dị hợp, ký hiệu là $h = \frac{H}{N}$

Kiểu gen đồng hợp lặn, ký hiệu là $r = \frac{R}{N}$

Ta có : $d + h + r = 1$ hoặc bằng 100%.

- Tần số tuyệt đối của gen: Là số alen trội, alen lặn trong quần thể.

Gen trội, ký hiệu là $P = 2D + H$

Gen lặn, ký hiệu là $Q = 2R + H$

Ta có $P + Q = 2N$

- Tần số tương đối của gen: Là tỷ lệ alen trội, alen lặn so với tổng số alen trong quần thể.

Gen trội, ký hiệu là $p = \frac{P}{2N} = \frac{2D + H}{2N} = d + \frac{1}{2}h$

Gen lặn, ký hiệu là $q = \frac{Q}{2N} = \frac{2R + H}{2N} = r + \frac{1}{2}h$

Ta có $p + q = 1$ hoặc bằng 100%.

1.4 Cấu trúc di truyền của quần thể.

Là tần số tương đối các alen (gen) và các kiểu gen có trong quần thể.

2. Di truyền trong quần thể.

2.1 Di truyền trong quần thể tự phối.

Quần thể tự phối là quần thể các cá thể có kiểu di truyền giống nhau, giao phối với nhau. Đối với thực vật là quần thể tự thụ phấn còn đối với động vật là các cá thể giao phối trong nội bộ một dòng thuần, họ hàng, gia đình...

Năm 1903, Johanson là người đầu tiên sử dụng các phương pháp di truyền và thống kê để nghiên cứu cấu trúc di truyền của quần thể. Ông chọn đối tượng nghiên cứu là cây đậu tự thụ phấn (*Phaseous vulgaris*).

Ông cân các hạt của giống đậu nói trên và xây dựng dãy biến thiên theo trọng lượng hạt. Ông nhận thấy, trọng lượng các hạt dao động trong khoảng 150 -170mg. Sau đó, Ông phân thành 2 nhóm: nhóm hạt nặng và nhóm hạt nhẹ, đem trồng riêng rẽ, thu hoạch và đem cân trọng lượng hạt trong từng nhóm. Ông nhận thấy, trọng lượng bình quân của các nhóm có sự sai khác nhau rõ rệt. Điều này chứng tỏ, giống đậu (quần thể) gồm những cây khác nhau về kiểu di truyền và do vậy cho ra các kiểu hình có trọng lượng hạt khác nhau. Ông tiếp tục chọn lọc ra những nhóm hạt nặng, hạt nhẹ liên tục qua 6-7 thế hệ. Sau đó đem gieo riêng và thu hoạch, cân trọng lượng hạt, cuối cùng, ông nhận thấy sự khác biệt về trọng lượng

binh quân của các nhóm hạt không còn nữa. Bằng phương pháp chọn lọc liên tục nhiều thế hệ và nội phối, quần thể đa dạng di truyền ban đầu đã trở thành các dòng thuần. Sự khác biệt về trọng lượng hạt bên trong một dòng thuần là không di truyền, hay chọn lọc trong dòng thuần là không có hiệu quả.

Ta lấy ví dụ đơn giản, quan sát một thể dị hợp, có kiểu gen Aa. Thể dị hợp này cho ra 2 loại giao tử là A và a, khi thụ tinh tạo thành hợp tử, chúng có thể tạo thành các cá thể mới có các kiểu gen: AA, Aa và aa với các tỷ lệ tương ứng: $1/4 : 1/2 : 1/4$. Tỷ lệ này được gọi là tần số các kiểu gen AA, Aa và aa, ta có bảng giao phối sau:

Bảng 9. Sơ đồ giao phối giữa bố mẹ có kiểu gen Aa x Aa

Giao tử \rightarrow	1/2 A	1/2 a
\downarrow	1/2 A	1/2 a
	1/4 AA	1/4 Aa
	1/4 Aa	1/4 aa

Giả sử mỗi cá thể bố mẹ có 4 con và ta tìm cấu trúc các kiểu gen trong thế hệ mới:

Bảng 10. Cấu trúc di truyền ở thế hệ con

Bố, mẹ	Đời con		
AA	4 AA		
Aa	1 AA	2 Aa	1 aa
Aa	1 AA	2 Aa	1 aa
aa			4 aa

Như vậy, trong thế hệ mới ta thấy số kiểu gen đồng hợp tăng lên, còn số kiểu gen dị hợp giảm đi một nửa so với thế hệ trước. Bằng cách tương tự ta có thể tính được số kiểu gen đồng hợp hay dị hợp cho các thế hệ tiếp theo. Nếu ký hiệu số thế hệ là n, thì tỷ lệ tần số các kiểu gen ở thế hệ thứ n được biểu thị bằng công thức:

$$(2^n - 1) AA + 2 Aa + (2^n - 1) aa.$$

Quần thể tự phối sẽ không duy trì được sự cân bằng các thành phần di truyền của nó, mà sự phân bố các tần số kiểu gen sẽ bị biến đổi từ thế hệ này qua thế hệ khác. Số lượng các thể đồng hợp (đồng hợp trội và đồng

hợp lặn AA, aa) tăng lên, số lượng dị hợp thể Aa bị giảm, sự tăng giảm này qua mỗi thế hệ là $\frac{1}{2}$ (50%).

2.2 Di truyền trong quần thể ngẫu phối (Panmixic population).

Là một quần thể di truyền mà các cá thể có thể giao phối tự do một cách ngẫu nhiên với nhau. Trong quần thể ngẫu phối các cá thể có cơ hội giao phối để tạo ra thế hệ kế tục như nhau. Việc ghép đôi nhân tạo và chọn lọc hoàn toàn không đặt ra. Quần thể ngẫu phối là một quần thể lý tưởng hay quần thể chuẩn để tiến hành các nghiên cứu di truyền học.

Trong quần thể ngẫu phối, cấu trúc di truyền của thế hệ sau được tạo nên nhờ tổ hợp các giao tử của bố mẹ khi thụ tinh. Số lượng cá thể của kiểu gen này hay kiểu gen khác được xác định bởi tần số các loại giao tử khác nhau do bố mẹ sinh ra.

Giả sử quần thể xét có 2 alen A và a, với tần số alen A = 0,5 và tần số alen a = 0,5. Các loại kiểu gen có thể có trong quần thể và các tần số tương ứng là AA = 0,25; Aa = 0,5 và aa = 0,25.

Ở thế hệ sau, cũng trong điều kiện tạo thành các loại giao tử khác nhau với xác suất bằng nhau. Như vậy, tần số mang alen A sẽ bằng 0,5 (0,25 từ các cá thể đồng hợp trội AA + 0,25 từ các cá thể dị hợp Aa). Tần số các giao tử mang gen lặn a cũng bằng 0,5 (0,15 từ các cá thể dị hợp Aa + 0,25 từ các cá thể đồng hợp lặn aa). Như vậy, trong mỗi thế hệ tần số tương đối của các giao tử mang các alen trội và alen lặn sẽ được duy trì ở mức 0,5 A và 0,5 a.

2.2.1 Định luật Hardy-Weinberg

Năm 1908, Hardy, nhà toán học người Anh, Weinberg, nhà di truyền học người Đức, đã độc lập với nhau và cùng đưa ra công thức phản ánh sự phân bố các kiểu gen trong quần thể ngẫu phối, công thức này được gọi là công thức Hardy-Weinberg (hay còn gọi là định luật cân bằng di truyền của Hardy-Weinberg).

Nội dung của định luật như sau: Trong quần thể sinh sản tự do (ngẫu phối) với số lượng lớn cá thể, nếu không có tác động của các yếu tố làm biến đổi tần số các alen (đột biến, chọn lọc, di nhập cư...) thì quần thể luôn ở trạng thái cân bằng di truyền, tức là tỷ lệ xác định các cá thể mang tính trạng trội, tính trạng lặn cũng như tần số tương đối mỗi alen có khuynh hướng duy trì ổn định qua các thế hệ.

Cân bằng di truyền được biểu thị bằng công thức toán học:

$$p^2 AA + 2pq Aa + q^2 aa = 1$$

Chứng minh định luật Hardy-Weinberg.

+ Chứng minh định luật bằng tần số các kiểu gen.

Ví dụ: Trong quần thể ngẫu phối gồm 25 cá thể được chia làm 3 nhóm có kiểu hình khác nhau, nhóm màu đen gồm 4 cá thể có kiểu gen AA, nhóm màu xám gồm 12 cá thể có kiểu gen Aa và nhóm màu trắng gồm 9 cá thể có kiểu gen aa.

-Tần số tương đối của nhóm màu đen là: $d = 4/25 = 0,16$

-Tần số tương đối của nhóm màu xám là: $h = 12/25 = 0,48$

-Tần số tương đối của nhóm màu trắng là: $r = 9/25 = 0,36$.

-Tần số tuyệt đối của gen trội A: $p = 0,16 + 0,24 = 0,4$

-Tần số tuyệt đối của gen lặn a: $q = 0,36 + 0,24 = 0,6$

Trong quần thể này có cùng xác suất thụ tinh, ta có:

Bảng 11. Tần số gen và tần số kiểu gen ở thế hệ con trong các phép giao phối

Thế hệ cha, mẹ	Xác suất	Thế hệ con		
		AA	Aa	aa
AA x AA	$d^2 = 0,16^2$	0,0256		
AA x Aa	$dh = 0,16 \times 0,48$	0,0384	0,0384	
AA x aa	$dr = 0,16 \times 0,36$		0,0576	
Aa x AA	$hd = 0,48 \times 0,16$	0,0384	0,0384	
Aa x Aa	$h^2 = 0,48^2$	0,0576	0,1152	0,0576
Aa x aa	$hr = 0,48 \times 0,36$		0,0864	0,0864
aa x AA	$rd = 0,36 \times 0,16$		0,0576	
aa x Aa	$rh = 0,36 \times 0,48$		0,0864	0,0864
aa x aa	$r^2 = 0,36^2$			0,1296
	Tổng cộng	0,16	0,48	0,36

Kết quả cho thấy, tần số tương đối của các kiểu gen ở thế hệ con cũng bằng tần số tương đối của các kiểu gen ở thế hệ bố, mẹ.

+ Chứng minh định luật bằng tần số các alen.

Ví dụ: Quan sát quần thể cây ngô. Trong quần thể có alen A, với tần số p kiểm tra sự tạo thành màu vàng của hạt và alen a, với tần số q kiểm tra sự tạo thành màu nâu của hạt. Xác suất của phần mang alen A bằng xác suất noãn mang alen A và tương tự đối với alen a. Như vậy ta có:

Bảng 12. Chứng minh định luật Hardy-Weinberg bằng tần số alen

$\frac{o}{\perp}$	σ	pA	qa
pA		$p^2 AA$	pq Aa
qa		pq Aa	$q^2 aa$

Tức là $p^2 AA : 2pq Aa : q^2 aa$ ở thế hệ con. Ta tính tần số tương đối của alen A và a trong thế hệ con.

Nếu tần số alen A ở thế hệ con là p_1 và alen a là q_1 , thì:

$$p_1 = p^2 + pq = p(p+q) = p$$

$$q_1 = q^2 + pq = q(q+p) = q$$

Như vậy, tần số của alen A và a ở thế hệ con cũng bằng tần số của chúng ở thế hệ bố, mẹ.

2.2.2 Các ứng dụng của định luật Hardy-Weinberg.

- Xem xét trạng thái cân bằng của quần thể.

Theo dõi ghi chép được tất cả các kiểu gen tại 1 locus, ta có thể kiểm định được tần số của chúng có tuân theo định luật Hardy-Weinberg hay không. Nếu quần thể tuân theo định luật Hardy-Weinberg thì tần số gen ở thế hệ con phải bằng tần số gen ở thế hệ bố, mẹ. Để kiểm định mức độ cân bằng di truyền, người ta sử dụng hàm phân bố (hoặc tiêu chuẩn phù hợp) χ^2 .

Ví dụ: Tần số các nhóm máu M-N ở người quan sát được như sau:

- Nhóm máu MM: 233 người

- Nhóm máu MN: 385 người

- Nhóm máu NN: 129 người

Cộng: 747 người.

Tần số gen M bằng: $233/747 + 1/2 (385/747) = 0,5696$

Tần số gen N bằng: $129/747 + 1/2 (385/747) = 0,4304$

Số cá thể dự kiến có kiểu gen MM là: $(0,5696)^2 \times 747 = 242,36$

Số cá thể dự kiến có kiểu gen MN là: $(2 \times 0,5695 \times 0,4304) \times 747 = 366,26$

Số cá thể dự kiến có kiểu gen NN là: $(0,4304)^2 \times 747 = 138,38$

Bảng 13. So sánh tần số quan sát và dự kiến xuất hiện các kiểu gen

	MM	MN	NN	Tổng số
Số lượng quan sát được	233	385	129	747
Số lượng dự kiến	242,36	366,26	138,38	747

Phép kiểm định χ^2 (độ tự do là 1) cho thấy sự khác biệt là không có ý nghĩa thống kê, chứng tỏ tần số kiểu gen nhóm máu M-N của quần thể người là tuân theo định luật Hardy-Weinberg.

- Ước lượng tần số gen của dị hợp tử.

Đối với các tính trạng được kiểm soát bởi 2 alen, được di truyền theo phương thức trội lặn, thì kiểu hình của các cá thể đồng hợp trội và dị hợp là giống nhau. Do đó việc xác định số lượng các cá thể dị hợp bằng phân biệt kiểu hình sẽ không thực hiện được. Trong trường hợp quần thể đạt trạng thái cân bằng, người ta có thể ứng dụng định luật Hardy-Wanberg để ước lượng số lượng cá thể này và tần số gen lặn. Điều này rất quan trọng trong thực tiễn khi người ta muốn loại bỏ hay hạn chế sự xuất hiện của một kiểu lặn không thỏa mãn yêu cầu của sản xuất.

Thí dụ: bệnh bạch tạng ở trâu là bệnh di truyền do gen lặn điều khiển. Giao phối giữa các trâu bạch tạng và không bạch tạng không có chọn lọc (ngẫu nhiên). Trong một đàn trâu có 5000 con, người ta điều tra tính được tỷ lệ trâu bạch tạng là 12,3%. Chúng ta giả sử rằng các điều kiện thỏa mãn yêu cầu của một quần thể ngẫu phối và tính toán được tiến hành theo định luật Hardy-Weinberg như sau:

Tần số các kiểu hình được tính toán theo công thức:

$$p^2 AA + 2 pq Aa + q^2 aa = 1 ,$$

Tỷ lệ trâu bạch tạng chính là tần số kiểu hình lặn, như vậy ta có:

$$q^2aa = 0,123, \text{ tần số gen lặn } qa = (0,123)^{1/2} = 0,35$$

$$\text{Tần số gen trội A là: } p A = 1 - 0,35 = 0,65$$

Tần số các kiểu hình như sau:

$$p^2AA = (0,65)^2 = 0,4225 = 42,25\%$$

$$2pq Aa = 2 \times 0,65 \times 0,35 = 0,455 = 45,5\%$$

$$q^2 aa = (0,35)^2 = 0,1225 = 12,25\%$$

- Xác định tần số gen của dãy alen.

Trong trường hợp ở một locus có nhiều alen cùng kiểm soát các kiểu hình của một tính trạng thì định luật Hardy-Weinberg được mở rộng.

Trường hợp 3 alen A_1 , A_2 và A_3 , ta có tần số các gen alen $p(A_1)$, $q(A_2)$ và $r(A_3)$, các kiểu hình được tính toán như sau:

$$p^2 A_1A_1 + q^2 A_2A_2 + r^2 A_3A_3 + 2pq A_1A_2 + 2pr A_1A_3 + 2qr A_2A_3 = 1.$$

Khi quần thể đạt trạng thái cân bằng, người ta có thể ứng dụng định luật Hardy-Weinberg để ước lượng tần số gen và kiểu gen của quần thể.

Thí dụ: Khảo sát nhóm máu ABO ở 18.491 người, dùng phản ứng huyết thanh người ta thu được kết quả như sau: 8337 người mang nhóm máu O, 7588 người mang nhóm máu A, 1817 người mang nhóm máu B và 749 người mang nhóm máu AB. Về mặt di truyền người ta biết rằng nhóm máu ABO ở người do dãy 3 alen qui định, gen I^A qui định nhóm máu A, gen I^B qui định nhóm máu B, cả 2 alen đồng trội $I^A I^B$ qui định nhóm máu AB và 2 alen lặn ii qui định nhóm máu O. Giả sử số mẫu khảo sát đạt trạng thái cân bằng, gọi p , q và r là lần lượt tần số các gen I^A , I^B và i , tần số các kiểu gen là:

$$p^2 I^A I^A + q^2 I^B I^B + r^2 ii + 2pq I^A I^B + 2pr I^A i + 2qr I^B i = 1$$

$$\text{Tần số gen } i \text{ là } r(i) = (8337/18491)^{1/2} = 0,6714.$$

Liên hệ $P(I^A)$ và $r(i)$ ta có: $(p + r)^2 = p^2 + 2pr + r^2$, mà $p^2 + 2pr$ chính là tần số kiểu hình nhóm máu A, ta có:

$$(p + r)^2 = (7588/18491) + (8337/18491) = 0,8613$$

$$p + r = (0,8613)^{1/2} = 0,9280.$$

Tần số gen pI^A sẽ là : $p(I^A) = 0,9280 - 0,6714 = 0,2566$

Từ biểu thức $p(I^A) + q(I^B) + r(i) = 1$, ta suy ra được tần số gen I^B như sau:

$$q(I^B) = 1 - (p + r) = 1 - 0,9280 = 0,0720.$$

- Tần số gen liên kết với giới tính.

Các gen liên kết với giới tính là các gen nằm trên nhiễm sắc thể giới tính và di truyền đồng thời với phân ly giới tính. Theo Hutt, 1978 thì nhiễm sắc thể Y ở nhiều loài sinh sản hữu tính và nhiễm sắc thể W lớp chim thường không mang gen, cho nên các gen liên kết giới tính chỉ nằm trên nhiễm sắc thể X ở động vật có vú hoặc Z ở gia cầm.

Xét trường hợp loài sinh sản hữu tính, cá thể dị hợp là con đực (XY) và cá thể đồng hợp là con cái XX. Nếu có 1 đôi gen alen A và a liên kết với giới tính, được ký hiệu là X^A và X^a , thì ở con đực có 2 kiểu gen $X^A Y$ và $X^a Y$, còn ở con cái có các kiểu gen $X^A X^A$, $X^A X^a$, $X^a X^a$. Như vậy con cái sẽ mang số lượng gen gấp đôi con đực và sẽ truyền cho thế hệ sau số lượng gen cũng gấp hai lần so với con đực.

Nếu gọi tần số gen X^A của đàn là p và tần số gen này ở con đực là p_m và ở con cái là p_f thì:

$$p = 1/3 p_m + 2/3 p_f.$$

Tương tự, nếu gọi tần số gen X^a của đàn là q và tần số gen này ở con đực là q_m và ở con cái là q_f , thì:

$$q = 1/3 q_m + 2/3 q_f.$$

Nếu gọi d, h và r là tần số các kiểu gen AA, Aa và aa ở con cái và s, t là tần số các kiểu gen $X^A Y$ và $X^a Y$ ở con đực thì ta có các trường hợp sau:

Tần số các gen A và a ở con cái như sau:

$$p_f = d + 1/2h$$

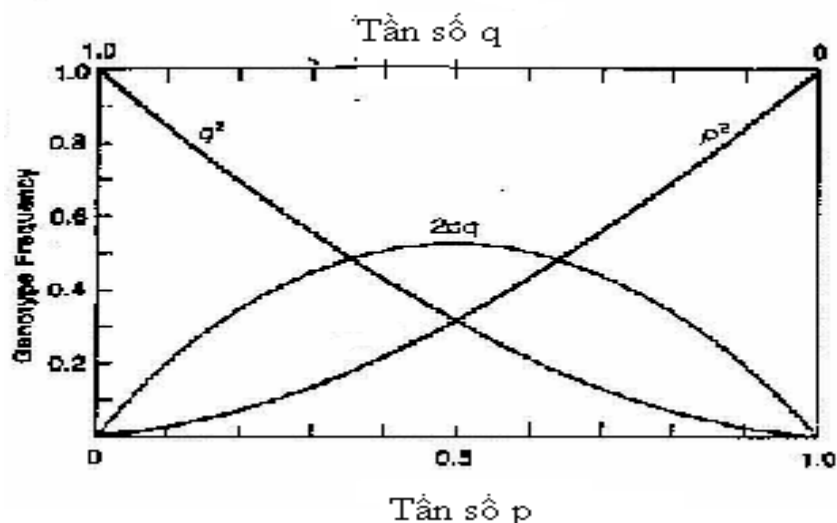
$$q_f = 1/2 h + r$$

Tần số các gen A và a ở con đực như sau:

$$p_m = s$$

$$q_m = t$$

Như vậy trong trường hợp con đực (hay cá thể dị giao tử) tần số kiểu gen và tần số gen trùng nhau. Do đó, người ta có thể dùng tần số kiểu gen để ước lượng tần số gen, từ đó tính được tần số gen của quần thể và tần số các kiểu gen của con cái.



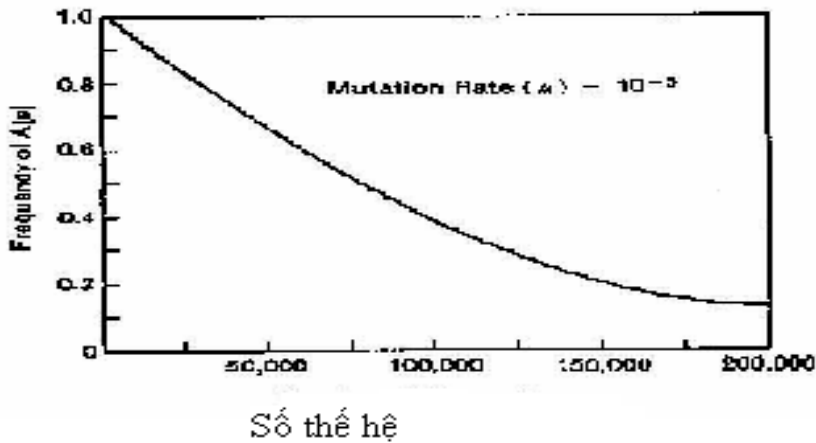
Hình 56. Mối quan hệ giữa tần số kiểu gen và tần số được biểu thị bằng định luật Hardy-Wanberg

3. Các nhân tố ảnh hưởng đến cân bằng di truyền trong quần thể.

3.1. Đột biến (mutation).

Như chúng ta đã biết tính ổn định tương đối của tần số gen trong quần thể chỉ có thể được duy trì nếu các gen không bị đột biến. Nhưng trong thực tế đột biến luôn xảy ra trong quần thể. Mặc dù mỗi gen chịu đột biến ngẫu nhiên (tự nhiên) rất thấp, nhưng vì số gen trong quần thể nhiều nên tổng số các đột biến khác nhau cũng rất đáng kể.

Mỗi thế hệ, vốn gen có thể được bổ sung thêm một số lượng lớn các đột biến mới. Quá trình này được gọi là áp lực đột biến. Như vậy, tần số các alen của các gen khác nhau trong quần thể sẽ biến đổi phụ thuộc vào áp lực đột biến.



Hình 57. Tốc độ thay đổi của alen bởi đột biến độc lập so với tốc độ đột biến trung bình 1.0×10^{-5} .

Ví dụ, trong một quần thể tất cả các cá thể là đồng hợp theo gen A (tần số của gen A là $p = 1$). Giả sử gen này bị đột biến thành a với xác suất 3.10^{-5} , tức là tính trung bình có 3 giao tử bị đột biến trong 100.000 giao tử. Nếu như vậy thì ở thế hệ sau, alen a sẽ gặp trong quần thể với tần số $q = 3.10^{-5}$ và sau đó tần số của gen này do đột biến sẽ tăng lên qua mỗi thế hệ một giá trị tương tự. Sau thời gian dài, nếu không có chọn lọc, sẽ đến lúc tất cả các alen trong quần thể đều biến thành a. Tức là giá trị p_A trong quần thể giảm đến 0 còn q_a lại tăng đến 1.

Giả sử gen A đột biến thành a (đột biến thuận) với cường độ là u , kết quả làm cho tần số gen lặn a ngày càng tăng lên trong quần thể, ngược lại tần số gen trội A ngày càng giảm. Hoặc gen a đột biến thành gen A (đột biến ngược) với cường độ là v , kết quả làm cho tần số gen trội A ngày càng tăng và tần số gen lặn a ngày càng giảm trong quần thể.

Giả sử gen A_1 đột biến thành A_2 với tần số là u trong mỗi thế hệ, tần số ban đầu của gen A_1 là p_0 và tần số của nó sau một thế hệ là p_1 thì:

$$p_1 = p_0 - up_0 = p_0 (1-u)$$

Nếu quá trình đột biến lại xảy ra ở các thế hệ kế tiếp với tần số u , tần số gene A_1 ở thế hệ thứ hai là:

$$p_2 = p_1(1-u) = p_0 (1-u) (1-u) = p_0 (1-u)^2.$$

Tương tự, nếu đột biến xảy ra liên tục đến thế hệ n , ta có tần số gene A_1 ở thế hệ n là: $p_n = p_0 (1-u)^n$.

3. 2 Ảnh hưởng của chọn lọc (selection).

Chọn lọc là quá trình sống sót của các cá thể mà kiểu gen của chúng có khả năng thích ứng tốt nhất với các điều kiện môi trường nhất định.

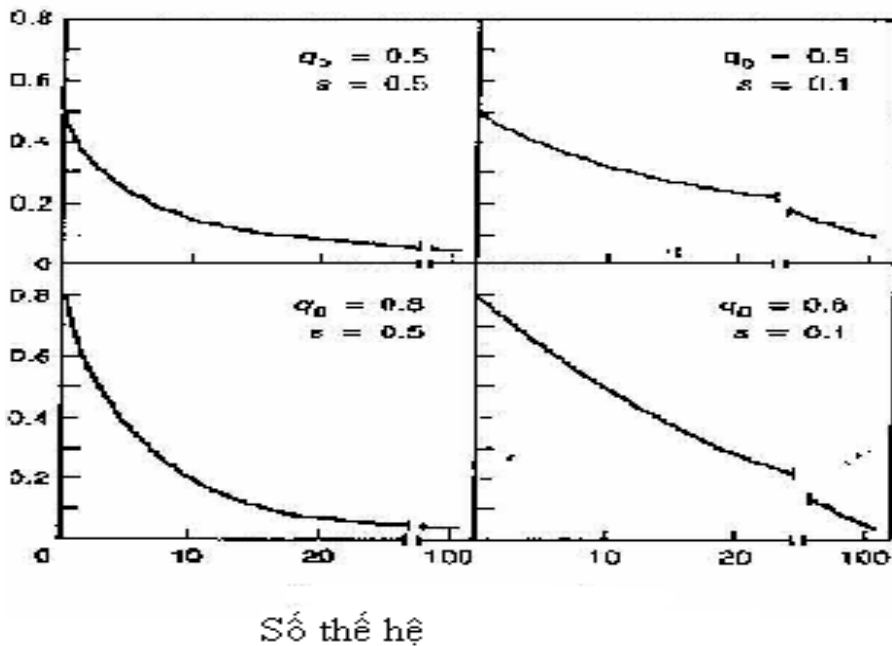
Xác suất để cá thể tồn tại và sinh sản phụ thuộc vào mức độ thích ứng của nó với môi trường. Các cá thể càng có mức độ thích ứng rộng bao nhiêu thì càng có khả năng duy trì và phát triển trong quần thể bấy nhiêu và ngược lại. Do vậy, tần số của gen nào đó trong quần thể là do chọn lọc xác định. Nếu các kiểu gen khác nhau có cùng độ sống sót và khả năng sinh sản thì hệ số chọn lọc sẽ bằng 0, ngược lại nếu một kiểu gen nào đó gây chết hoặc bất dục hoàn toàn thì hệ số chọn lọc sẽ bằng 1.

Khi một cá thể mang một kiểu gen nào đó bị đào thải bởi chọn lọc thì tần số gen tương ứng trong quần thể sẽ giảm đi. Như vậy, chọn lọc hạn chế sự di truyền của các gen bất lợi trong quần thể.

Các gen trội và gen lặn bị loại khỏi quần thể với tốc độ khác nhau. Các cá thể mang gen trội gây chết hay các gen bất dục trội bị loại bỏ ngay cả trong trạng thái dị hợp. Các gen lặn có thể tồn tại trong quần thể ở trạng thái dị hợp và được tích lũy lại tạo nên nguồn dự trữ đột biến. Đột biến lặn chỉ bị đào thải khi nó đã sinh sôi nảy nở trong quần thể đủ nhiều để chuyển sang trạng thái đồng hợp.

Tần số các alen lặn trong quần thể càng nhỏ thì các cá thể dị hợp càng chiếm tỷ lệ cao so với các thể đồng hợp. Chọn lọc càng đào thải nhiều các cá thể đồng hợp ra khỏi quần thể thì vai trò của các thể dị hợp càng lớn vì chúng là nguồn cung cấp các alen lặn cho thế hệ sau. Do vậy, việc chọn lọc các alen lặn là ít hiệu quả so với việc chọn lọc các alen trội. Ngay cả việc loại bỏ hoàn toàn các cá thể đồng hợp lặn ra khỏi quần thể trong mỗi thế hệ cũng không làm mất hết chúng trong quần thể ở bất kỳ thế hệ nào vì chúng luôn là nguồn cung cấp và tạo ra các thể đồng hợp lặn.

Thông thường các thể dị hợp có sức sống cao hơn so với cả hai dạng đồng hợp. Do vậy, chúng có ưu thế chọn lọc, sự tồn tại và lan truyền chúng được bảo đảm bởi chọn lọc. Cũng do vậy khả năng phân li ra các thế hệ đồng hợp lặn càng tăng lên.



Hình 58. Thay đổi tần số alen dưới ảnh hưởng của chọn lọc ($s=1,0$)

Giả sử chúng ta xét trường hợp chọn lọc loại thải chống lại gen a với cường độ là s (coefficient of selection), thì tần số gen a còn lại sau chọn lọc là f (độ thích nghi) (fitness) và $f = 1-s$.

Cấu trúc di truyền của quần thể sau chọn lọc là:

$$p^2AA + 2pqAa + q^2(1-s)aa = 1-sq^2.$$

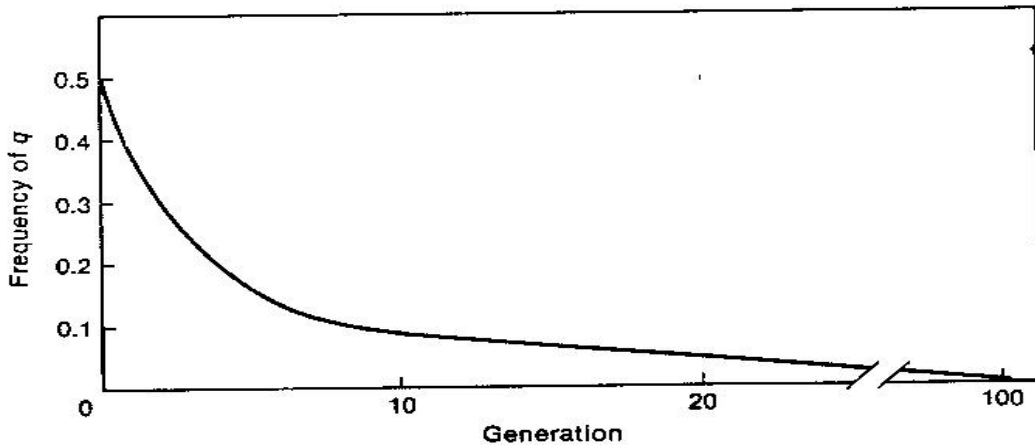
Sau một thế hệ chọn lọc loại thải, tần số gen a là q_1 sẽ là:

$$q_1 = \frac{pq + q^2(1-s)}{1-sq^2} = \frac{pq + q^2 - sq^2}{1-sq^2} = \frac{q(1-sq)}{1-sq^2}$$

Tần số gen a bị mất đi sau một thế hệ chọn lọc loại thải là:

$$\Delta q = q_1 - q_0 = \frac{q(1-sq)}{1-sq^2} - q = -\frac{sq^2(1-q)}{1-sq^2}$$

Generation	p	q	p^2	$2pq$	q^2
0	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25
1	0.67	0.33	0.44	0.44	0.12
2	0.75	0.25	0.56	0.38	0.06
3	0.80	0.20	0.64	0.32	0.04
4	0.83	0.17	0.69	0.28	0.03
5	0.86	0.14	0.73	0.25	0.02
10	0.91	0.09	0.84	0.15	0.01
20	0.95	0.05	0.91	0.09	< 0.01
40	0.98	0.02	0.95	0.05	< 0.01
70	0.99	0.01	0.98	0.02	< 0.01
100	0.99	0.01	0.98	0.02	< 0.01



Hình 59. Thay đổi tần số alen với các hệ số chọn lọc khác nhau và tần số gen khác nhau

Nếu chọn lọc loại thái 100% cá thể đồng hợp lặn ra khỏi quần thể thì tần số gen a sau 1 thế hệ sẽ là $q_1 = \frac{q(1-q)}{1-q^2} = \frac{q}{1+q}$ và sau n thế hệ chọn lọc loại thái liên tục như vậy thì tần số gen a sẽ còn $q_n = \frac{q}{1+nq}$

Số thế hệ cần chọn lọc loại thải 100% cá thể đồng hợp lặn là $n = \frac{1}{q_n} - \frac{1}{q}$

3.3 Di nhập cư (migration).

Trong thực tế các quần thể luôn có quan hệ trao đổi với nhau, một số cá thể của quần thể này có thể đi đến một quần thể khác (di cư) và ngược lại, một số cá thể nhập vào quần thể từ một quần thể khác (nhập cư). Quá trình di nhập cư này dẫn đến hiện tượng di nhập gen và làm thay đổi cấu trúc di truyền của quần thể.

Khi một số cá thể di cư khỏi quần thể cư trú, nó sẽ mang đi một liều lượng gen nào đó và làm giảm tần số gen đó trong quần thể, ngược lại khi một số cá thể từ một quần thể khác đến nhập vào quần thể và mang theo một liều lượng gen làm cho tần số gen đó sẽ tăng lên.

Ví dụ, một số cá thể di cư khỏi quần thể cư trú, tần số gen q_0 nào đó sẽ thay đổi thành q_1 với: $q_1 = q_0 - mq_0 = q_0(1-m)$

Trong đó m là tỷ lệ cá thể ra khỏi quần thể.

Trường hợp có một tỷ lệ m cá thể mang tần số gen nhất định là q' đến nhập cư vào quần thể thì tần số gene q_0 sẽ thay đổi thành q_1 với: $q_1 = mq' + (1-m)q_0$

3.4 Kích thước của quần thể (size of population).

Tần số gen được xác định bởi kích thước của quần thể (số lượng cá thể trong quần thể). Kích thước quần thể càng nhỏ thì khả năng giao phối với nhau của các cá thể dị hợp càng tăng lên, do vậy việc xuất hiện các cá thể lặn ở thế hệ sau càng nhiều. Ngược lại, số lượng cá thể trong quần thể càng nhiều thì khả năng xuất hiện các cá thể lặn càng ít. Trong quần thể nhỏ, chọn lọc sẽ đào thải các gen có hại và tích lũy các gen có lợi nhanh hơn.

4. Một số tham số di truyền ứng dụng trong công tác giống gia súc.

4.1. Hệ số di truyền (heritability).

4.1.1 Khái niệm.

Hệ số di truyền là tỷ lệ của phần do gen qui định trong việc hình thành giá trị kiểu hình hoặc hồi qui giữa giá trị di truyền lên giá trị kiểu hình của con vật.

Giá trị kiểu hình của con vật được biểu thị bằng công thức: $P = G + E$

Trong đó: P là giá trị kiểu hình; G là giá trị kiểu di truyền và E là tác động của môi trường.

$$b = \frac{COV(G, P)}{VarP} = h^2 \rightarrow h^2 = \frac{COV(G, G + E)}{\sigma^2 P} = \frac{\sigma^2 G}{\sigma^2 P}$$

Hệ số di truyền được tính theo công thức trên được gọi là hệ số di truyền theo nghĩa rộng.

Trong thành phần phương sai di truyền bao gồm nhiều thành phần tạo nên, $\sigma^2 G = \sigma^2 A + \sigma^2 D + \sigma^2 I \dots$ do đó ta không thể xác định được chính xác. Trong các phần của phương sai di truyền thì thành phần $\sigma^2 A$ là có khả năng di truyền lại cho thế hệ sau (đó là thành phần phương sai giá trị giống). Do đó, trong thực tiễn chọn giống động vật, người ta thường quan tâm đến hệ số di truyền được tính theo công thức: $h^2 = \frac{\sigma^2 A}{\sigma^2 P}$, đó là hệ số di truyền theo nghĩa hẹp, quyết định mức độ giống nhau giữa các thân thuộc.

Giá trị của hệ số di truyền: $0 \leq h^2 \leq 1$; $0\% \leq h^2 \leq 100\%$

4.1.2 Các nhân tố ảnh hưởng đến hệ số di truyền.

- Bản chất di truyền của tính trạng.

Kiểu di truyền hay kiểu gen quyết định khả năng di truyền của con vật. Bản chất di truyền của tính trạng chính là kiểu di truyền của tính trạng đó.

Kiểu di truyền là kết quả của quá trình tiến hóa lâu dài, kết quả của chọn lọc tự nhiên và hoạt động của từng gen riêng rẽ liên quan đến sự hình thành tính trạng hoặc là nhân tố tổng hợp các tác động tương hỗ giữa các gen tạo thành tính trạng hoặc trong quá trình phát triển cá thể. Nó thể hiện như một thể thống nhất, toàn vẹn, điều hòa toàn bộ đời sống của con vật.

Các tính trạng số lượng thuộc loại tính trạng đa gen, chịu ảnh hưởng lớn của sự tác động tương hỗ giữa các gen và chịu ảnh hưởng mạnh của ngoại cảnh. Khả năng di truyền của các tính trạng này được quyết định bởi hiệu ứng của các gen, bao gồm ba loại ứng với ba loại tính trạng sau:

+ Các tính trạng bị ảnh hưởng bởi hiệu ứng cộng gộp của các gen là chủ yếu. Thuộc loại này có các tính trạng phản ánh chất lượng của sản phẩm: tỷ lệ nạc của lợn, tỷ lệ mỡ sữa của bò.... Phương sai giá trị cộng gộp

của tính trạng này là lớn và ít chịu ảnh hưởng của môi trường, tính trạng có hệ số di truyền cao.

+ Các tính trạng bị ảnh hưởng bởi các gen có hiệu ứng hỗn hợp giữa hiệu ứng cộng gộp, trội và át chế gen. Đó là các tính trạng biểu thị số lượng sản phẩm như tốc độ tăng trọng, sản lượng sữa, tiêu tốn thức ăn.... Đối với các tính trạng này, ngoài phương sai di truyền cộng gộp còn có phương sai trội và phương sai di truyền át chế gen, do vậy hệ số di truyền ở mức trung bình.

+ Các tính trạng bị ảnh hưởng bởi hiệu ứng trội và át chế gen là chủ yếu. Đó là các tính trạng có liên quan đến khả năng sinh sản như: tỷ lệ thụ tinh, tỷ lệ ấp nở của gà, số con đẻ ra trong 1 lứa của lợn.... Phương sai di truyền trội và phương sai di truyền át chế gen là chủ yếu, đồng thời phương sai môi trường cũng đóng vai trò quan trọng nên hệ số di truyền của các tính trạng này thường là thấp.

- Bản chất di truyền của quần thể.

Hệ số di truyền của tính trạng có thể thay đổi tùy theo cấu trúc di truyền của quần thể và mức độ chọn lọc trong quần thể.

Quần thể đã được duy trì lâu dài và tiến hành chọn lọc với cường độ cao sẽ làm cho quần thể đồng nhất về mặt di truyền và đưa đến giảm giá trị phương sai cộng gộp, từ đó giảm hệ số di truyền của tính trạng. Ngược lại, quần thể mới được hình thành, cường độ chọn lọc còn thấp sẽ làm cho quần thể kém đồng nhất về di truyền dẫn đến làm tăng giá trị phương sai cộng gộp từ đó làm tăng giá trị hệ số di truyền của tính trạng. Một quần thể nhỏ, mức độ đồng huyết cao sẽ làm tăng các gen đồng hợp, phương sai cộng gộp nhỏ dẫn đến tính trạng có hệ số di truyền thấp.

- Hệ số di truyền và mức độ đồng nhất của môi trường.

Trong phương sai kiểu hình có thành phần phương sai môi trường. Yếu tố môi trường thay đổi có thể làm thay đổi giá trị kiểu hình của tính trạng, dẫn đến hệ số di truyền cũng thay đổi. Khi con vật sống trong môi trường đồng nhất thì phương sai môi trường giảm, hệ số di truyền tăng lên và ngược lại.

4.1.3 Ứng dụng của hệ số di truyền.

- Hệ số di truyền với cải tiến điều kiện nuôi dưỡng, đối với các tính trạng có hệ số di truyền thấp nên chú trọng cải tiến điều kiện nuôi dưỡng kết hợp với chọn lọc kiểu di truyền. Đối với các tính trạng có hệ số di

truyền cao cũng cần phải cải tiến môi trường và cần phải chọn lọc kỹ để nâng cao năng suất của quần thể.

- Hệ số di truyền với chọn lọc thuần chủng hay lai tạo. Đối với các tính trạng có hệ số di truyền thấp nên chú trọng tạp giao để nâng cao năng suất và sau đó chọn lọc thuần chủng, còn tính trạng có hệ số di truyền cao thì cần chọn lọc để làm nguyên liệu gốc ổn định cho việc nâng cao năng suất bằng lai tạo.

- Hệ số di truyền với các phương pháp chọn lọc. Đối với các tính trạng có hệ số di truyền thấp nên chọn lọc theo gia đình, chọn lọc qua đời sau, còn đối với các tính trạng có hệ số di truyền cao thì nên áp dụng phương pháp chọn lọc tổ tiên, anh chị em và chọn lọc bản thân cá thể.

- Hệ số di truyền dùng để dự đoán hiệu quả ưu thế lai và mức độ suy hóa cận huyết. Đối với các tính trạng có hệ số di truyền thấp, khi lai tạo cho ưu thế lai cao, khi giao phối cận huyết ảnh hưởng của suy hóa rõ và mạnh. Các tính trạng có hệ số di truyền cao, khi lai tạo cho ưu thế lai thấp và ảnh hưởng của suy hóa trong giao phối cận huyết lại thấp và chậm.

- Hệ số di truyền dùng để dự đoán năng suất đời con.

P đời con = P bố, mẹ + h^2S . Trong đó, P là giá trị kiểu hình, h^2 hệ số di truyền và S là ly sai chọn lọc.

- Hệ số di truyền dùng để xác định giá trị giống của con vật làm giống.

$EBV = h^2 (P_i - \bar{P})$, trong đó EBV là giá trị giống dự đoán (Estimated breeding value), P_i là giá trị kiểu hình cá thể, \bar{P} là giá trị kiểu hình trung bình của quần thể.

4.2 Hệ số tương quan di truyền (genetical relation).

4.2.1 Khái niệm.

Giữa các tính trạng khác nhau của một cá thể, thường có quan hệ với nhau. Ví dụ, bò có sản lượng sữa cao, tỷ lệ mỡ sữa thường thấp; gà đẻ nhiều trứng thì trọng lượng trứng bé; lợn nhiều mỡ thường có tỷ lệ nạc thấp... Đó là tương quan kiểu hình giữa các tính trạng. Tương quan kiểu hình bao gồm tương quan di truyền và tương quan môi trường. Tương quan di truyền do các gen đồng thời qui định hai hoặc nhiều tính trạng gây nên.

Tương quan môi trường là do hiệu ứng của các yếu tố môi trường đối với hai hoặc nhiều tính trạng. Chẳng hạn, thức ăn tốt góp phần đồng thời làm tăng tốc độ sinh trưởng và nâng cao thể trọng. Tương quan di truyền và tương quan môi trường có thể khác nhau về mức độ cao thấp và hướng thuận nghịch.

Mối quan hệ giữa hai tính trạng có thể trực tiếp quan sát được là tương quan kiểu hình. Tương quan kiểu hình được xác định từ việc đo lường hai tính trạng trên các cá thể của quần thể.

Hệ số tương quan là tỷ số giữa hiệp phương sai và trung bình nhân của phương sai các tính trạng quan sát.

$$r_P = \frac{\sigma_{PXPY}}{\sigma_{PX} \sigma_{PY}}, \quad r_A = \frac{\sigma_{AXAY}}{\sigma_{AX} \sigma_{AY}}, \quad r_E = \frac{\sigma_{EXEY}}{\sigma_{EX} \sigma_{EY}}$$

Do hiệp phương sai kiểu hình bằng tổng hiệp phương sai di truyền và hiệp phương sai môi trường, do vậy:

$$\sigma_{PXPY} = \sigma_{AXAY} + \sigma_{EXEY}$$

$$\text{nên, } r_P \cdot \sigma_{PX} \sigma_{PY} = r_A \sigma_{AXAY} + r_E \sigma_{EXEY}$$

$$\text{mà, } h^2 = \frac{\sigma^2 A}{\sigma^2 P}, \quad e^2 = \frac{\sigma^2 E}{\sigma^2 P} = 1 - h^2$$

Do vậy,

$$r_P \cdot \sigma_{PX} \sigma_{PY} = r_A h_X \sigma_{PX} h_Y \sigma_{PY} + r_E e_X \sigma_{PX} e_Y \sigma_{PY}$$

$$r_P = h_X h_Y r_A + e_X e_Y r_E$$

Biểu thức này cho thấy, nếu hệ số di truyền của cả hai tính trạng đều thấp, tương quan kiểu hình chủ yếu do tương quan ngoại cảnh quyết định. Ngược lại, hệ số di truyền của cả hai tính trạng đều cao, tương quan di truyền quyết định tương quan kiểu hình. Hệ số tương quan di truyền và hệ số tương quan kiểu hình không nhất thiết tương đương nhau về độ lớn và cả về dấu.

Hệ số tương quan di truyền có thể được hiểu là: Phần sức mạnh của mối quan hệ giữa giá trị giống của tính trạng này và giá trị giống của

tính trạng kia. Trong thực tế đôi khi tương quan di truyền chặt chẽ, nhưng tương quan kiểu hình lại không chặt chẽ.

Ví dụ: Tương quan di truyền giữa trọng lượng sơ sinh và trọng lượng cai sữa là 0,7, rất chặt chẽ, nhưng tương quan kiểu hình giữa hai tính trạng này chỉ là 0,35 lại không chặt chẽ.

Tương quan môi trường phản ánh sức mạnh của mối quan hệ giữa ảnh hưởng của môi trường lên tính trạng này và ảnh hưởng của môi trường lên tính trạng kia.

Nếu hệ số di truyền của hai tính trạng đều thấp, tương quan kiểu hình chủ yếu do tương quan ngoại cảnh quyết định. Ngược lại, hệ số di truyền của hai tính trạng đều cao, tương quan di truyền quyết định tương quan kiểu hình. Giữa hai tính trạng có thể có hệ số tương quan kiểu hình cao, nhưng tương quan di truyền lại thấp, tương quan môi trường cao và ngược lại. Sự khác nhau về dấu chứng tỏ tác động ngược chiều nhau giữa các yếu tố di truyền và ngoại cảnh lên một tính trạng.

Giá trị của hệ số tương quan: $0 \leq r \leq 1$

Nếu $r > 0$, tương quan dương (thuận), hai tính trạng chọn lọc có biến thiên cùng chiều. (X tăng hoặc giảm thì Y cũng tăng hoặc giảm).

Nếu $r < 0$, tương quan âm (nghịch), hai tính trạng chọn lọc có biến thiên ngược chiều (X tăng hoặc giảm thì Y sẽ giảm hoặc tăng).

$0 \leq |r| \leq 0,33$, tương quan yếu, không chặt chẽ.

$0,33 \leq |r| \leq 0,66$, tương quan trung bình, tương đối chặt chẽ.

$0,66 \leq |r| \leq 0,99$, tương qua chặt chẽ, tương quan cao.

$0,99 \leq |r| \leq 1,00$, tương quan rất chặt chẽ, tương quan hàm tính.

4.2.2 Ý nghĩa của hệ số tương quan.

- Dựa vào hệ số tương quan (mức độ chặt chẽ, chiều hướng) ta có thể biết được mức độ thay đổi của tính trạng có liên quan.

- Dựa vào hệ số tương quan giữa hai tính trạng ta có thể dự đoán tương quan với tính trạng thứ ba.

- Dựa vào hệ số tương quan ta có thể hạn chế được số lượng chỉ tiêu chọn lọc, nâng cao hiệu quả chọn lọc và chọn được nhiều cá thể mong muốn.

4.3 Hệ số lặp lại (repeatability).

4.3.1 Khái niệm.

Hệ số lặp lại là một đại lượng biểu thị mức độ trùng lặp của tính trạng được đo lường. Có hai loại lặp lại:

- Theo thời gian: Các tính trạng lặp lại theo thời gian là các tính trạng có thể đo lường được ở các lứa tuổi khác nhau của con vật. Ví dụ, sản lượng sữa theo chu kỳ của bò, số con đẻ ra trong 1 lứa của lợn...

Thành phần phương sai của cá thể có nguồn gốc hoàn toàn môi trường, được gây ra bởi sự khác nhau tạm thời của môi trường giữa các năng suất kế tiếp nhau của một cá thể. Còn thành phần phương sai giữa các cá thể có nguồn gốc một phần do di truyền và một phần do môi trường, được gây ra do ảnh hưởng thường xuyên của môi trường tới từng cá thể.

- Theo không gian. Là những tính trạng có phần đặc biệt như độ dày lớp mỡ dưới da ở lợn, sản lượng sữa bò của hai vú trước, hai vú sau....Thành phần phương sai của các tính trạng theo không gian cũng gần giống như loại trên.

Hệ số lặp lại của một tính trạng chính là tỷ lệ giữa tổng phương sai giá trị kiểu gen (di truyền) và phương sai của sai lệch môi trường cố định so với phương sai của giá trị kiểu hình.

$$R = \frac{\sigma^2 G + \sigma^2 E_p}{\sigma^2 P} = \frac{\sigma^2 G + \sigma^2 E_p}{\sigma^2 G + \sigma^2 E_p + \sigma^2 E_t}$$

Trong đó, R là hệ số lặp lại, $\sigma^2 E_p$ là phương sai do sai lệch môi trường cố định và $\sigma^2 E_t$ là phương sai do sai lệch môi trường tạm thời.

Giá trị của hệ số lặp lại. $0 \leq R \leq 1$

4.3.2 Ý nghĩa của hệ số lặp lại.

- Hệ số lặp lại càng lớn thì xác suất để lặp lại năng suất như cũ càng lớn.

- Khi hệ số lặp lại của một tính trạng là cao thì chỉ cần đo lường ít lần là có thể quyết định giữa con vật đó làm giống hay không. Nếu hệ số lặp lại thấp phải đo lường nhiều lần mới quyết định được.

- Hệ số lặp lại có thể giúp người chăn nuôi dự đoán năng suất tương lai của con vật từ năng suất đã có. Ví dụ, hệ số lặp lại của khối lượng bê cai sữa là 0,47. Nếu một bò cái đẻ bê lứa đầu mà khối lượng của nó hơn trung bình khối lượng bê cai sữa toàn đàn là 2 kg thì có thể dự đoán khối lượng bê cai sữa ở lứa thứ hai sẽ hơn trung bình khối lượng bê cai sữa của toàn đàn là $0,47 \times 2 = 0,94$ kg.

- Hệ số lặp lại dùng để hiệu chỉnh hệ số di truyền đối với các tính trạng có lặp lại hoặc được đo lường nhiều lần.

Công thức hiệu chỉnh hệ số di truyền.

$$h_n^2 = \frac{nh^2}{1 + (n-1)R}$$
, trong đó n là số chu kỳ lặp lại hoặc số lần ghi chép số liệu, h^2 là hệ số di truyền của tính trạng, R là hệ số lặp lại.

Câu hỏi ôn tập chương 4

1. Thế nào là quần thể? Tần số kiểu gen? Tần số gen trong quần thể
2. Thế nào là quần thể nội phối? Hãy cho biết thay đổi di truyền trong quần thể nội phối?
3. Thế nào là quần thể ngẫu phối? Định luật Hardy-Weinberg? Điều kiện đảm bảo cho định luật. Ứng dụng của định luật Hardy-Weinberg.
4. Hãy cho biết thay đổi của tần số gen do đột biến? Chọn lọc? Di nhập cư.
5. Thế nào là hệ số di truyền? Các nhân tố ảnh hưởng đến hệ số di truyền? Ứng dụng của hệ số di truyền trong công tác giống vật nuôi.
6. Thế nào là hệ số lặp lại? Ứng dụng của hệ số lặp lại trong chăn nuôi và công tác giống.

Chương 5

GIAO PHỐI CẬN HUYẾT VÀ ƯU THỂ LAI.

Trong thực tế công tác giống chăn nuôi, người ta thường áp dụng các biện pháp kỹ thuật như chọn lọc, nhân giống và lai tạo giống vật nuôi. Khi tiến hành nhân giống để tăng số lượng cá thể, tăng độ thuần chủng (giống nhau) hoặc để ổn định đặc điểm di truyền của dòng, giống, đôi khi nhận thấy con cái có biểu hiện giảm sút (sức sống, năng suất...). Khi tiến hành lai tạo giữa các giống, dòng, người ta nhận thấy con cái tốt hơn so với bố mẹ. Trong chương này, chúng ta sẽ tìm hiểu nguyên nhân dẫn đến các hiện tượng trên, phương pháp xác định mức độ biểu hiện để ứng dụng trong công tác giống gia súc.

1. Giao phối cận huyết (inbreeding).

1.1. Khái niệm.

Là giao phối giữa các cá thể có quan hệ huyết thống gần gũi hoặc tương tự nhau về kiểu di truyền.

Ví dụ, giao phối giữa bố mẹ với con cái, anh chị em với nhau hoặc giữa các cá thể họ hàng.

1.2. Nguyên nhân.

1.2.1 Tự nhiên.

- Do kích thước quần thể nhỏ.
- Do ảnh hưởng của chọn lọc sinh dục.
- Quần thể cách ly.

1.2.2 Nhân tạo.

- Do số lượng cá thể đực được giữ lại làm giống thường ít hơn cá thể cái.
- Do yêu cầu của công tác giống cần phải tiến hành giao phối cận thân, ví dụ nhân giống theo dòng, tạo giống mới....
- Do quản lý giống không chặt chẽ (đặc biệt trong thụ tinh nhân tạo).

1.3 Hậu quả của giao phối cận huyết.

Giao phối cận thân sẽ dẫn đến làm xuất hiện các thể đồng hợp (trong đó có cả đồng hợp trội và đồng hợp lặn). Từ đó làm cho tỷ lệ cá thể có

kiểu gen đồng hợp tăng lên và tương ứng tỷ lệ cá thể có kiểu gen dị hợp ngày càng giảm. Sự tăng tần số cá thể có kiểu gen đồng hợp lặn, nếu gen lặn là gen gây chết, thì sẽ dẫn đến hiện tượng suy giảm về sức sống, tăng kỳ hình dị tật, giảm năng suất ở đời con so với bố mẹ.

Giả sử, quần thể bố mẹ ban đầu có 2 gen A và a và 100% là dị hợp (Aa). Sau 1 thế hệ giao phối cận thân, số cá thể dị hợp sẽ giảm còn 50% và tương ứng số cá thể đồng hợp tăng lên 50%. Nếu tiếp tục cho phối cận thân, dị hợp lại giảm tiếp 50% và đồng hợp lại tăng lên 50%. (xem phần nội phối ở chương Di truyền quần thể).

Khi xét hậu quả của giao phối cận thân, chúng ta nhận thấy, bên cạnh xuất hiện những đặc điểm có lợi, đôi khi còn xuất hiện những đặc điểm bất lợi. Trong công tác giống gia súc, người ta thường áp dụng các biện pháp kỹ thuật để phát huy những đặc điểm có lợi, đồng thời hạn chế những tác hại của giao phối cận thân.

1.3.1 Lợi ích của giao phối cận huyết.

- Cận huyết loại bỏ những gen lặn không mong muốn ra khỏi đàn giống.

- Do các gen mong muốn thường là trội, nên các con vật tốt thường là ưu việt về di truyền và cận huyết có tác dụng ổn định di truyền các đặc điểm tốt.

- Nhờ cận huyết, các dòng hoặc các gia đình riêng biệt có thể được phát triển từ đàn hạt nhân. Chọn lọc trong gia đình đối với các tính trạng kinh tế ở gia súc chỉ có thể thực hiện sau khi các gia đình đã phát triển.

- Cận huyết kết hợp với chọn lọc đã tạo được nhiều giống gia súc quý giá.

- Nhờ cận huyết có thể xác định giá trị di truyền thực tế của 1 cá thể, của một loại gen đối với các tính trạng khác nhau của vật nuôi. Ví dụ, nếu hiệu quả cận huyết lớn đối với một tính trạng nào đó thì chứng tỏ ảnh hưởng không cộng gộp của gen là lớn và ngược lại.

- Bằng cận huyết và chọn lọc, nhiều dòng động vật thí nghiệm như chuột nhắt, thỏ, chuột lang.... đã được tạo ra. Các dòng cận huyết là vật liệu quý giá nhất để nghiên cứu sự di truyền của các đặc tính. Chẳng hạn, các dòng chuột nhắt đã tạo ra có ung thư phổi hay leukenun, cũng có những dòng không bị một loại ung thư nào.

- Người ta cũng đã gây được các dòng cận huyết cao ở gia súc và gia cầm để lai tạo ra các con lai có ưu thế lai cao.

1.3.2 Bất lợi của giao phối cận huyết.

Phần lớn các nhà chọn giống cũng như các nhà sản xuất gia súc thương phẩm đều tránh cận huyết cao độ vì các lý do sau:

- Cùng với việc gia tăng tần số và cường độ cận huyết làm xuất hiện các tính trạng không mong muốn, đặc biệt là các tính trạng được kiểm soát bởi các gen gây chết và nửa gây chết.

- Tốc độ sinh trưởng của gia súc thường bị giảm sút bởi cận huyết. Sự giảm sút là khá lớn ngay cả khi dòng cận huyết ở mức độ vừa phải trong các đàn thương phẩm.

- Cận huyết ở cả hai loại động vật thí nghiệm và động vật nông nghiệp đều làm giảm hiệu suất sinh sản. Do cận huyết, ở một số con đực sự phát triển tinh hoàn có thể bị chậm lại và ở một số con cái trứng rụng có thể giảm. Ở cả hai giới, cận huyết làm chậm tuổi thành thục, tỷ lệ chết phôi tăng.

- Các con vật cận huyết đều có khả năng sống thấp hơn con vật không cận huyết. Nhìn chung các con vật cận huyết đều dễ bị ảnh hưởng bởi stress do những thay đổi của các điều kiện môi trường hơn những con vật không cận huyết.

- Nếu cận huyết cao độ có thể dẫn đến suy hóa. Đó là hiện tượng sinh ra do giao phối giữa các cá thể bố mẹ có quan hệ huyết thống gần gũi, đời con sinh ra giảm sức sống, giảm năng suất, xuất hiện kỳ hình, bệnh tật, thậm chí gây chết được gọi là hiện tượng suy hóa.

Các yếu tố ảnh hưởng đến suy hóa:

- Mức độ cận thân giữa các cá thể giao phối có quan hệ huyết thống càng gần thì mức độ suy hóa càng cao, ngược lại các cá thể giao phối có quan hệ huyết thống càng xa thì mức độ suy hóa càng thấp.

- Tính trạng xem xét có hệ số di truyền thấp thì mức độ suy hóa cao, ngược lại tính trạng có hệ số di truyền cao thì mức độ suy hóa thấp.

- Điều kiện nuôi dưỡng kém thì mức độ suy hóa cận huyết cao, ngược lại trong điều kiện nuôi dưỡng tốt thì mức độ suy hóa sẽ thấp.

1.4 Phương pháp xác định mức độ cận huyết.

1920, Wright đã đưa ra công thức tính độ cận thân, được gọi là hệ số đồng huyết.

$$F_x = \sum \left(\frac{1}{2}\right)^{n_1+n_2+1} (1 + F_A)$$

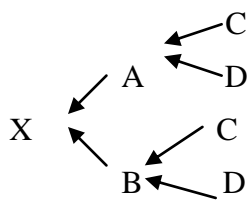
Trong đó: F_x là hệ số đồng huyết của cá thể nghiên cứu.

n_1 là số thế hệ từ tổ tiên chung đến bố của cá thể nghiên cứu.

n_2 là số thế hệ từ tổ tiên chung đến mẹ của cá thể nghiên cứu.

F_A là hệ số đồng huyết của tổ tiên chung.

Ví dụ: Hãy xác định hệ số đồng huyết của các thể X trong hệ phả sau::



$$F_x = \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} + \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} = \frac{1}{4} = 0,25$$

2. Ưu thế lai (heterosis).

2.1. Khái niệm về ưu thế lai.

Ưu thế lai là hiện tượng khi lai giữa hai bố mẹ khác nhau về di truyền (khác giống, dòng...) con lai F_1 tỏ ra ưu việt hơn bố mẹ chúng về mặt sinh trưởng, sức chống chịu, năng suất.... Thuật ngữ “ưu thế lai” được Shull đưa ra vào đầu năm 1914, mặc dù hiện tượng “sức mạnh con lai” đã được biết và mô tả trước đó khá lâu.

Trong thực vật học, hiện tượng “sức mạnh con lai” đã được Kelreiter mô tả từ năm 1766 và nhận định rằng, “sức mạnh con lai” liên quan đến mức độ khác nhau về mặt di truyền của cha mẹ chúng. Sau đó ít lâu, công trình của Darwin “Tác dụng của thụ phấn chéo và tự thụ phấn

trong giới thực vật” đã đưa ra qui luật của tự nhiên về lợi ích của lai giống và tác hại của tự thụ phần kéo dài.

Darwin đã gắn liền khả năng sống và sức sản xuất cao của các con lai với sự tham gia của các tế bào sinh dục đực và cái đã được biệt hóa về sinh lý và di truyền trong quá trình sinh sản. Người ta cho rằng các dạng chuyên hóa trong một giống sẽ xuất hiện hiệu quả ưu thế lai không chỉ do sự phong phú hơn của tính di truyền mà còn nâng cao khả năng sống nhờ kết hợp các tế bào sinh dục không họ hàng, nhờ mở rộng khả năng thích ứng và bền vững của cơ thể với những tác động bất lợi của các điều kiện bên ngoài. Tất cả các điều đó dẫn đến nâng cao các tính trạng có lợi, tính trạng kinh tế (tốc độ sinh trưởng, độ hữu thụ, năng suất...)

2.2 Các biểu hiện của ưu thế lai.

Trong chăn nuôi gia súc, sự xuất hiện ưu thế lai rất đa dạng và phức tạp. Có thể liệt kê các dạng ưu thế lai có gặp như sau:

- Con lai F_1 vượt hơn bố mẹ về thể trạng và sức sống, khả năng sinh sản bình thường và đôi khi còn tốt hơn bố mẹ. Thể hiện khi lai lạc đà một bướm với lạc đà hai bướm; lai giữa các loại bò chuyên dụng thịt .

- Khi lai giữa các giống lợn, gà hương trứng với gà thịt-trứng như gà Leughorn với gà Newhampshire, Plymouth rock, Australop...thì sức sản xuất của con lai F_1 chiếm vị trí trung gian về thể trọng, nhưng vượt hơn bố hoặc mẹ về độ hữu thụ và khả năng sống.

- Con lai F_1 vượt hơn bố, mẹ về thể chất vững chắc, tuổi thọ, sức làm việc, song lại mất (hoàn toàn hoặc một phần) khả năng sinh sản, điển hình là con lai giữa ngựa và lừa bất dục hoàn toàn. Song, khi lai giữa bò nhà với những loại bò rừng như Yak, Bison bison.....hoặc giữa một số loài thuộc lớp chim thì chỉ có giới dị giao tử là bất dục, còn giới đồng giao tử vẫn hoàn toàn hữu dục.

- Dạng ưu thế lai đặc biệt, khi mỗi tính trạng tách ra một cách riêng rẽ thì F_1 là trung gian, nhưng về sức sản xuất cuối cùng thì lại thấy có ưu thế lai điển hình. Ví dụ, khi lai giữa bò Holstein Friesean (Lang trắng đen) với bò Jersey người ta thấy về sản lượng sữa và tỷ lệ mỡ sữa, con lai F_1 chiếm vị trí trung gian, nhưng sức sản xuất cuối cùng (tổng lượng mỡ) lại thấy vượt trội hơn cả bố, mẹ.

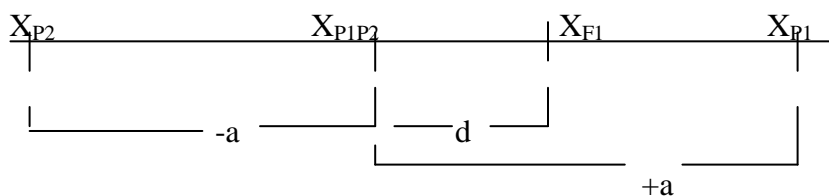
Bảng 14. Thể hiện ưu thế lai về sản lượng sữa và tỷ lệ mỡ sữa ở bò

Giống	Sản lượng sữa (kg)	Tỷ lệ mỡ (%)	Tổng lượng mỡ (kg)
Holstein Friesean	6.000	3,0	180,0
Jersey	3.000	6,0	150,0
Con lai F ₁	4.500	4,5	202,5

- Một dạng ưu thế lai khác ở vật nuôi là sức sản xuất của con lai tuy không cao hơn cha mẹ loại tốt nhưng cao hơn chỉ tiêu trung bình của hai giống gốc. Loại này chưa được nhiều người thừa nhận.

2.3 Công thức tính ưu thế lai.

Ưu thế lai có thể được biểu thị theo sơ đồ sau:



Như vậy, khi $d = 0$ không có ưu thế lai.

$d < a$ trường hợp trội không hoàn toàn.

$d = a$ trường hợp trội hoàn toàn

$d > a$ siêu trội.

Từ đó, chúng ta có công thức tính ưu thế lai:

$$H(\%) = \frac{\bar{X}_{F_1} - \frac{\bar{X}_{P_1} + \bar{X}_{P_2}}{2}}{\frac{\bar{X}_{P_1} + \bar{X}_{P_2}}{2}} \times 100 = \frac{\bar{X}_{F_1} - \bar{X}_{P_1P_2}}{\bar{X}_{P_1P_2}}$$

Trong đó, H% mức độ biểu hiện của ưu thế lai.

\bar{X}_{F_1} giá trị trung bình của tính trạng ở con lai F₁

\bar{X}_{P_1} giá trị trung bình của tính trạng ở một bố, mẹ

$\bar{X} p_2$ giá trị trung bình của tính trạng ở bố, mẹ kia.

2.4 Cơ sở di truyền của ưu thế lai.

Như chúng ta đã biết ưu thế lai là hiện tượng sinh học phức tạp loài người đã biết và sử dụng từ lâu, song cơ sở sinh học của nó vẫn chưa hoàn toàn sáng tỏ. Sau đây là một số giả thuyết giải thích cơ sở di truyền của hiện tượng này.

2.4.1 Thuyết tập trung gen trội có lợi.

Theo thuyết này, tiến hóa của quần thể xảy ra dưới tác động của chọn lọc tự nhiên mà các nhân tố di truyền tác động có lợi lên sự sinh trưởng, sức sản xuất... là trội hoặc trội không hoàn toàn, còn những nhân tố tác động bất lợi lên chúng là lặn. Trong các quần thể ngẫu phối, các gen trội có lợi này thường ở trạng thái dị hợp. Nhưng khi tự thụ phấn hay giao phối cận huyết, các quần thể này bị phân hóa thành các dòng mà trong đó các gen này hay gen khác chuyển sang trạng thái đồng hợp. Lúc đó, các dòng khác nhau là đồng hợp theo các gen trội có lợi khác nhau. Nếu lai các dòng này sẽ dẫn đến là con lai F_1 có số nhân tố trội điều khiển các tính trạng là lớn hơn so với các dòng cha mẹ, nhờ đó xuất hiện ưu thế lai.

Giả sử, có 3 locus gen tham gia vào sự hình thành của một tính trạng kinh tế. Cho rằng mỗi alen lặn đóng góp 1 đơn vị và mỗi alen trội đóng góp 2 đơn vị vào kiểu hình. Phép lai 2 dòng cận huyết có thể tạo ra các con lai F_1 có năng suất cao hơn so với các dòng cha mẹ (ưu thế lai) như sau:

P	Kiểu gen	AabbCCddEE	x	aaBBccDDee
	Giá trị kiểu hình	$2 + 1 + 2 + 1 + 2 = 8$		$1 + 2 + 1 + 2 + 1 = 7$
F_1	Kiểu gen	AaBbCcDdEe		
	Giá trị kiểu hình	$2 + 2 + 2 + 2 + 2 = 10$		

Như vậy, ưu thế lai là hiệu quả của việc tập trung các gen trội có lợi không alen ở con lai F_1 .

2.4.2 Thuyết dị hợp và siêu trội.

Một quan niệm khác mà theo đó tính dị hợp theo nhiều gen chính là cơ sở của ưu thế lai (Shull, 1908, 1952, East, 1908, 1919, Hayes, 1952). Người ta cho rằng, các alen khác nhau của cùng một gen trong các cơ thể dị hợp là quan trọng đối với các quá trình tổng hợp hóa sinh và là tốt

hơn so với các alen đồng hợp, đảm bảo tính đa dạng cần thiết của chức năng sinh lý cho sự phát triển cơ thể.

Giải thuyết siêu trội đã được Shull đưa ra vào năm 1914 là sự phát triển tiếp theo của thuyết dị hợp. Theo thuyết này, tương tác giữa các alen ở trạng thái dị hợp mạnh hơn so với các alen ở trạng thái đồng hợp, kết quả là hiệu ứng ưu thế lai ở con lai F_1 lớn hơn tất cả các hiệu ứng của các alen ở cả hai bố mẹ. Bởi vì, mỗi alen trong quá trình tổng hợp hóa sinh thực hiện chức năng khác nhau, cho nên trong thể dị hợp (có các alen khác nhau) các chức năng khác nhau này sẽ gây nên hiệu ứng bổ sung lẫn nhau. Hiện tượng bổ sung này đã thể hiện rõ trong di truyền học thực nghiệm và di truyền học hóa sinh. Emerson (1952) trên cơ sở nghiên cứu ở nấm *Neurospora crasa* đã đưa ra mô hình về bản chất hóa sinh của ưu thế lai. *Neurospora crasa* là sinh vật được đặc trưng bởi bộ đơn bội vật chất nhân, song khi cấy chung các chủng khác nhau thì thành phần nhân của tế bào này có thể chuyển sang tế bào khác tạo nên tế bào có hỗn hợp hai thành phần nhân gọi là thể dị nhân. Emerson đã so sánh sự sinh trưởng của hai tập đoàn xuất phát trong môi trường tối thiểu: đột biến thiếu sulphamid (sfo, +) và đột biến thiếu paraamino benzoic acid (+, pab) với thể lai dị nhân của chúng. Chủng đột biến thứ nhất tổng hợp được methionine và paraamino benzoic acid nhưng không tổng hợp đủ số lượng cần thiết treonine. Chủng kia, ngược lại tổng hợp đủ threonine nhưng không tổng hợp đủ methionine và paraamino benzoic acid, cho nên những chủng này phát triển kém trong môi trường tối thiểu. Song thể dị nhân, thu được từ việc “lai” giữa hai chủng thì hai dạng chất nhân đã bổ sung cho nhau nên chúng sinh trưởng hoàn toàn tốt trong môi trường này.

Một ví dụ khác đã được biết rộng rãi trong di truyền y học là trong nhiều vùng ở Châu Phi và Ấn Độ có xuất hiện đột biến làm thay đổi 1 amino acid trong phân tử hemoglobin làm hồng cầu có dạng hình lưỡi liềm. Ở trạng thái đồng hợp, đột biến như vậy dẫn tới dạng thiếu máu đặc biệt có hiệu quả gây chết. Song những người mang đột biến này ở trạng thái dị hợp không những hoàn toàn có khả năng sống mà còn có tính bền vững cao, chống lại những dạng có hại của sốt rét địa phương.

Trong cả hai giả thuyết “tập trung gene trội” và “tính dị hợp và siêu trội” ở trên chúng ta mới phân tích vai trò của sự tương tác giữa các gen alen với nhau trong việc xuất hiện ưu thế lai. Tuy nhiên, ngoài sự tương tác của các gen alen, thì sự tương tác giữa các gen không alen (khác locus) cũng có thể ảnh hưởng tới việc biểu hiện ưu thế lai (bổ trợ và át

chế). Mặt khác các gen này không chỉ ở trạng thái phân ly độc lập mà cả trường hợp một số gen liên kết cũng cần phải tính đến.

2.4.3 Vai trò của mối tương quan giữa nhân và tế bào chất.

Để giải thích hiện tượng ưu thế lai, năm 1914 Shull cũng đã đưa ra giả thuyết về sự biến đổi giữa nhân và tế bào chất khi lai giống.

Kết quả khảo nghiệm được tiến hành trên động vật và thực vật cho thấy sự khác nhau của con lai trong các phép lai tương hỗ (thuận nghịch). Ví dụ, khi lai giữa ngựa và lừa cho con lai khác nhau.. Những sai khác này có thể do:

- + Hợp tử lai do lai tương hỗ khác nhau về bản chất, phụ thuộc chủ yếu vào cấu trúc tế bào chất được xác định bởi cơ thể mẹ.

- + Do những đặc điểm đặc thù của ảnh hưởng sinh lý lên đời con từ phía mẹ.

Nhìn chung, trong mối quan hệ này thì vai trò của nucleic acid trong các cơ quan tử của bào chất như ty thể, lục thể.... đóng vai trò quan trọng. Chúng có thể tham gia trực tiếp vào biểu hiện ưu thế lai, đồng thời cũng có thể tương tác với các gen nhân bào trong việc làm xuất hiện ưu thế lai.

2.4.4 Ưu thế lai và khả năng phối hợp.

Ưu thế lai là hiện tượng sinh học phức tạp mà loài người đã biết và sử dụng nó trong sản xuất từ lâu, song cho đến nay, khoa học còn chưa hoàn thiện được các phương pháp dự đoán trước tổ hợp các cặp cha mẹ nào cho kết quả tốt. Chính vì vậy mà một mạng lưới lớn các cơ quan khoa học ở các nước khác nhau đã được xây dựng để tìm ra tổ hợp các giống, các dòng động vật cho ưu thế lai cao (có khả năng phối hợp cao) cho địa phương mình.

Như vậy, khái niệm về khả năng phối hợp di truyền các cặp bố mẹ có liên quan chặt chẽ đến hiện tượng ưu thế lai. Những nghiên cứu về vấn đề này đã được bắt đầu ở Mỹ trên ngô vào năm 1952. Các tác giả đã phân chia thành hai khái niệm khác nhau:

- + Khả năng phối hợp chung (General combining ability) là khả năng một dòng, một gia đình và ngay cả một cá thể cho ưu thế lai với tất cả các dòng, các gia đình khác. Vì vậy nó được tính bằng giá trị ưu thế lai trung bình của tất cả các tổ hợp lai với sự tham gia của dòng, gia đình đó.

+ Khả năng phối hợp đặc biệt (Special combining ability) là khả năng một dòng, một gia đình cho ưu thế lai chỉ khi lai với một dòng, gia đình nhất định.

Khả năng phối hợp được biểu thị bằng biểu thức toán học sau:

$$H(AB) = GC(A) + GC(B) + SC(AB)$$

Trong đó,

$H(AB)$ là sức sản xuất được xác định về di truyền của con lai AB

GC là khả năng phối hợp chung

SC là khả năng phối hợp đặc biệt

Trong các nhân tố di truyền thì các gen có tác dụng cộng gộp và át chế có ảnh hưởng mạnh mẽ lên GC , trong khi đó SC về cơ bản phụ thuộc vào ảnh hưởng át chế và các nhân tố trội. Ngoài ra các gen không cộng gộp khác cũng có ý nghĩa và ảnh hưởng đối với SC . Nhiều thí nghiệm đã cho thấy vai trò của SC tăng cùng với việc tăng mức cận huyết và sự phân hóa về di truyền của các dòng cha mẹ ban đầu. Điều này có liên quan chặt chẽ với khả năng dự đoán kết quả lai trên cơ sở các chỉ tiêu của các dạng cha mẹ.

2.5 Các yếu tố ảnh hưởng đến ưu thế lai.

Mức độ biểu hiện của ưu thế lai phụ thuộc vào các yếu tố sau:

- Nguồn gốc di truyền của các dạng cha mẹ đem lai. Các dạng cha mẹ có nguồn gốc di truyền càng xa nhau thì ưu thế lai biểu hiện càng cao và ngược lại, cha mẹ có nguồn gốc di truyền càng gần nhau thì ưu thế lai biểu hiện càng thấp.

- Hệ số di truyền của tính trạng nghiên cứu, nhìn chung các tính trạng có hệ số di truyền cao thì mức độ biểu hiện của ưu thế lai thấp và ngược lại, các tính trạng có hệ số di truyền thấp thì mức độ biểu hiện ưu thế lai cao.

- Chiều hướng của phép lai, mức độ biểu hiện của ưu thế lai còn phụ thuộc vào hướng lai, tức là sử dụng giống, dòng nào làm mẹ, giống, dòng nào làm bố trong các phép lai cụ thể.

Câu hỏi ôn tập chương 5

1. Thế nào là giao phối cận huyết? Nguyên nhân dẫn đến giao phối cận huyết? Lợi ích và bất lợi của giao phối cận huyết. Phương xác định mức độ cận huyết.
2. Thế nào là ưu thế lai? Các dạng biểu hiện của ưu thế lai?
3. Hãy cho biết cơ sở di truyền của ưu thế lai. Phương pháp xác định ưu thế lai.

Chương 6.

ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ BẢO VỆ NGUỒN GEN QUÍ HIẾM Ở ĐỘNG VẬT.

Các giống vật nuôi là một bộ phận quan trọng của đa dạng sinh học nó là tài sản quý giá hiện đang phát huy ý nghĩa kinh tế như là giống thuần thích nghi với điều kiện sinh thái địa phương đồng thời còn là nguyên liệu phục vụ cho công tác lai tạo giống trước mắt và sau này. Không riêng các loài dã thú bị uy hiếp nghiêm trọng do môi trường sống bị thu hẹp và sự săn bắt của con người. Các giống vật nuôi dưới tác động của thiên nhiên và áp lực của kinh tế thị trường cũng đang bị mất dần, bị làm nghèo đi.

Một trong những niềm tự hào của đất nước ta, đó là dù phải trải qua những cuộc chiến tranh khốc liệt, chúng ta vẫn còn giữ được một kho tàng đa dạng sinh học phong phú. Và việc gìn giữ kho báu này là công việc của toàn dân của nhà nước ta.

Giống như dã thú, các vật nuôi cũng chịu sự hủy diệt của thiên nhiên và ngay của con người, ngoài các lý do thiên tai hỏa hoạn còn do:

- Áp lực của cơ chế thị trường chạy theo năng suất cao, qua thay đổi giống mới, bỏ giống địa phương.
- Tác động của các kỹ thuật mới như thụ tinh nhân tạo, tạo ra vô vàn giống lai có năng suất cao hơn, làm các giống nội thuần biến mất.

Sự tuyệt chủng của nhiều giống vật nuôi địa phương, những giống tuy năng suất thấp nhưng mang những đặc điểm quý giá như thơm ngon, chịu đựng dinh dưỡng thấp, thích nghi với điều kiện sinh thái. Sự tuyệt chủng này gần đây xảy ra rất nhanh theo tốc độ phát triển của kinh tế thị trường và đô thị hóa.

Sự đa dạng về giống sẽ là nguồn vật liệu quý giá trong lai tạo các giống phù hợp với nhu cầu luôn thay đổi của thị trường.

Nhu cầu của con người về tiêu dùng và sản xuất trong tương lai là chưa biết hết được. Sự bảo tồn nguồn gen chính là biện pháp bảo tồn nguyên liệu sản xuất cho tương lai. Điều này đã thấy ở nước ta qua hai điển hình: lợn Móng Cái và gà Ri cho đến nay vẫn có tác dụng lớn trong sản xuất.

Sự đa dạng di truyền vật nuôi là vật liệu quý của công tác nghiên cứu và giáo dục nhất là trong các môn như: miễn dịch, di truyền giống, dinh dưỡng, sinh sản.

1. Biến dị di truyền ở động vật.

Biến dị di truyền là yếu tố hết sức cần thiết để cải tiến di truyền, có các tiến bộ di truyền đối với vật nuôi và cây trồng. Với ưu thế của công nghệ truyền gen, mọi loài sinh vật trên quả đất đều có thể là một nguồn biến dị di truyền rất có giá trị cho các phương hướng cải tạo, chọn tạo giống mới. Các nhà nhân giống cây trồng đang chú ý sử dụng các gen có lợi từ vius, vi khuẩn, nấm vào các cây trồng.

Đa dạng di truyền là bao gồm tất cả các gen, các alen của tất cả các loài sinh vật có trên trái đất hay một khu vực, một vùng nào đó. Biến dị di truyền là nhân tố quyết định tính đa dạng di truyền. Đa dạng di truyền thường bị mất đi qua các quá trình tiêu biến của quần thể, mất đi các nguồn biến dị trong quần thể. Đa dạng di truyền chỉ được bảo tồn khi bảo vệ được nguồn biến dị hoặc qua xuất hiện các đột biến mới (đột biến ngẫu nhiên, nhân tạo hoặc phát sinh đột biến trong thực nghiệm). Đa dạng di truyền cần thiết được bảo toàn để động vật, vật nuôi có thể đáp ứng được các hướng chọn giống theo các chỉ tiêu kinh tế mong muốn, đối phó đáp ứng các cải biến theo thị hiếu tiêu dùng (thịt nạc, trứng gà có vỏ màu nâu...), đối phó với các biến đổi môi trường sống (bò sữa nuôi ở vùng nhiệt đới) và đáp ứng được các yêu cầu, chức năng mới, như sản xuất được α_1 -antitrypsin qua sữa cừu (Clark, 1990), tổng hợp được yếu tố IX (làm đông máu ở người được sản xuất qua sữa cừu, qua chuột...).

Trong lĩnh vực đa dạng di truyền, đa dạng sinh học động vật, hiện nổi lên vấn đề cấp bách là hiện tượng suy thoái, mất đi các biến dị di truyền, mất dần tính đa dạng di truyền, do các nguyên nhân sau:

- Nguyên nhân quan trọng là do chính hoạt động không hợp lý của con người: phá rừng, hủy hoại môi trường sinh thái, gây ra tình trạng ô nhiễm môi trường sống, dẫn tới làm thoái hóa và diệt chủng nhiều loài động vật quý, do động vật mất đi lãnh địa sinh sống, thiếu thức ăn qua khai thác bừa bãi của con người, qua ô nhiễm môi trường sinh sống.

- Trong quá trình chăn nuôi gia súc, gia cầm là tình trạng sản xuất chuyên hóa cao, chỉ tập trung vào một số ít giống cao sản, chăn nuôi công nghiệp, làm giảm đi sự phong phú, đa dạng của các giống.

- Với hướng chạy theo các giống cao sản nhập nội, ở nhiều nước có hiện tượng biến đổi nhanh chóng các giống nội, giống quý địa phương, cổ truyền đã có quá trình thích nghi lâu đời với điều kiện của đất nước.

Bảo vệ nguồn lợi di truyền động vật, các giống vật nuôi, động vật hoang dã là vấn đề cấp bách của thế giới và của Việt Nam hiện nay.

2 Bảo tồn nguồn gene vật nuôi.

2.1 Tại sao lại xem xét đến việc bảo tồn.

Việc thuần hoá những loài vật nuôi đã bắt đầu cách đây 12.000 năm khi con người bắt đầu nuôi giữ động vật để cày kéo, làm thực phẩm, lấy lông và sử dụng cho nông nghiệp. Ngày nay có khoảng 40 loài động vật có vú và loài chim đã được thuần hoá, có tầm quan trọng cho thực phẩm và nông nghiệp. Ngành chăn nuôi chủ yếu trên thế giới chỉ với 14 loài trong hơn 500 giống.

Xấp xỉ 1,96 tỷ người chiếm 40% dân số trên thế giới phụ thuộc trực tiếp vào vật nuôi để đáp ứng 1 phần hay toàn bộ nhu cầu hàng ngày của họ, ước tính 12% dân số phụ thuộc hầu như hoàn toàn vào những sản phẩm của động vật nhai lại như bò, cừu, dê. Vật nuôi biến đổi cây cỏ và phế phụ phẩm nông nghiệp (mà con người không ăn được) thành sản phẩm có dinh dưỡng quan trọng.

Gần 40% đất đai ở những nước phát triển có thể chỉ được dùng cho việc trồng cỏ chăn nuôi. Vật nuôi chiếm 19% thực phẩm trên thế giới, chúng cũng cung cấp tới 25% sức kéo và phân bón cho sản xuất nông nghiệp mang lại sự đóng góp tổng số tối đa là 25% và do vậy cấu phần chủ yếu trong an toàn thực phẩm, thêm vào đó vật nuôi là một sự dự trữ hàng hoá rất quan trọng trong hệ thống kết hợp trang trại và đồng cỏ, do vậy giảm rủi ro, vật nuôi đáp ứng toàn bộ khoảng 30% nhu cầu về thực phẩm và nông nghiệp của con người. Do dân số tăng nhanh, mức tiêu dùng thực phẩm và những sản phẩm nông nghiệp tăng, nên động vật là những nhân tố quan trọng đáp ứng nhu cầu của toàn cầu trong tương lai cũng như nâng cao chất lượng cuộc sống của những vùng nông thôn.

Nhiều giống vật nuôi bị đe dọa hoặc có nguy cơ tuyệt chủng. Dựa vào sự điều tra của toàn thế giới, danh sách về đa dạng vật nuôi trên thế giới (WWWL. DAS:2, FAO/UNFP 1995) đã phân loại 27% (170/1433) giống bị đe dọa hay có nguy cơ tuyệt chủng. Ước tính trong 5000 giống có từ 100 - 1600 giống bị đe dọa trên hành tinh, nên toàn cầu có khoảng hơn 50 giống bị mất một năm, xấp xỉ 1 giống/1 tuần, trong khi nhiều giống giảm về số lượng, những giống này sẽ rất không an toàn trong tương lai

nên không có hoạt động để bảo tồn chúng, những giống khác nguy cơ diệt chủng sắp xảy ra nếu không can thiệp kịp thời.

2.2 Những nguyên nhân mất sự đa dạng vật nuôi

Một vài nhân tố dẫn đến những giống có nguy cơ bị mất hay bị đe dọa, nguyên nhân lớn nhất của sự sồi mòn di truyền là sự phát triển theo su hướng hoàn toàn dựa vào số lượng rất hạn chế những giống phù hợp với đầu vào - đầu ra của nền nông nghiệp công nghiệp hoá, xu hướng này liên quan đến khoảng 50% biến dị di truyền giữa các giống còn lại là chung cho tất cả các giống. Do vậy một vài giống có thể loại bỏ một lượng biến dị đáng kể trong loài và hủy hoại những tổ hợp gen sẵn có trong nguồn gen.

Ở những nước đã phát triển về kỹ thuật sinh sản và tạo giống cao thì ngành nông nghiệp tăng lên đáng kể. Cơ bản của thành công này là khả năng phát triển và ứng dụng những kỹ thuật, sử dụng nhiều quần thể giống khác nhau có chứa những tổ hợp gen hoặc những gen mong muốn. Đó là một công việc có ý nghĩa bởi khả năng sử dụng gen trên toàn thế giới, phát triển và chu chuyển dễ dàng những giống đã được chọn lọc cao. Kỹ thuật đó đem lại thành công về mặt này nhưng lại nguy hại về mặt khác vì chương trình cải tiến ở thế kỷ này chỉ tập trung vào một vài giống trong mỗi loài, sử dụng đầu vào ở mức cao và cũng chỉ dựa vào một hoặc hai tính trạng xác định được tiến hành ở môi trường tương đối thuận lợi. Số lượng tăng nhanh qua việc áp dụng kỹ thuật sinh sản, chủ yếu qua thụ tinh nhân tạo. Những kỹ thuật sinh học hiện đại khác như là cấy truyền phôi và nhân bản trong khi có hiệu quả cao thì nó vẫn có thể tạo ra những vấn đề bất lợi nếu không có biện pháp phòng ngừa thích đáng. Kết quả đến nay là có một số lượng lớn những giống và những dòng thích nghi cao với điều kiện môi trường đặc biệt bị đe dọa hay diệt chủng.

Những nguyên nhân giảm nguồn gen động vật

- Sự xuất hiện những giống ngoại
- Chính sách nông nghiệp không thoả đáng
- Hạn chế tạo ra những giống mới
- Nhu cầu thị trường thay đổi
- Suy thoái hệ thống sinh thái
- Những thảm hoạ do tự nhiên
- Nền chính trị không ổn định.

Trong lịch sử tạo giống vật nuôi trên thế giới, có một số lượng rất lớn những giống được tạo ra, nhiều giống trong số đó đã bị tiết chủng, chẳng có gì mà phải lo lắng về tốc độ tạo ra giống mới cũng như tốc độ tiết chủng. Tuy nhiên qua 100 năm điều đó không còn đúng nữa: tỷ lệ tiết chủng của những giống và những loài tăng cao, vượt quá với tỷ lệ tạo ra làm mất biến dị di truyền của vật nuôi toàn cầu.

Riêng Châu Âu ở thế kỷ này có 60 giống vật nuôi đã bị tiết chủng và 200 giống nữa được xem như là có nguy cơ tiết chủng, ở nhiều nước có nền nông nghiệp phát triển và thay đổi mạnh có xu hướng tập trung chương trình giống vật nuôi vào một vài giống tương đối không đồng nhất hoàn toàn, đánh giá và xây dựng những kế hoạch để bảo tồn gia súc sẵn có ở những địa phương.

Ở những nước đang phát triển có một vài nhân tố cơ bản làm giảm sự đa dạng di truyền:

Nhập những giống ngoại, vì giống ngoại nhập thường không thích nghi, những giống mới được xuất hiện rất nhanh qua việc lai tạo bừa bãi bằng sự trợ giúp của những dự án nước ngoài và kết quả cuối cùng là một vài giống nội đã bị mất.

Do ảnh hưởng của nền kinh tế xã hội ngắn hạn đã dẫn đến sự thay đổi thị hiếu tại các giống của người chăn nuôi. Những ảnh hưởng này có thể là do chính sách nông nghiệp không thỏa đáng hay do nhu cầu thị trường thay đổi.

Hệ sinh thái của vật nuôi bị suy thoái

Những thảm họa do tự nhiên như hạn hán, bệnh tật

Chiến tranh và nền chính trị không ổn định.

Ở những nước đang phát triển, nhưng khả năng sản xuất lại cao khi chú trọng đến môi trường sản xuất và mức độ đầu ra thì những giống nội đã thích nghi thường có ngoại hình nhỏ. Những giống nội sản xuất và sinh sản trong điều kiện môi trường rất khắc nghiệt và được coi là một tài sản quan trọng vì chúng có những tính trạng thích nghi có giá trị. Khả năng sản xuất trong môi trường khắc nghiệt này là vô cùng quan trọng bởi vì phần lớn các nước không thể duy trì được hệ thống đầu vào/đầu ra.

Lợn Meishan: Giống lợn này có nguồn gốc từ Trung Quốc và nổi tiếng có số con/lứa cao, giống lợn này được công ty giống lợn quốc tế sử dụng để tạo ra dòng thương phẩm có tốc độ sinh sản cao cũng từ đó phát hiện ra một gen mà có ảnh hưởng lớn đến số con/lứa.

Có khoảng hơn 160 nước đang phát triển chứa nguồn gen chủ yếu của thế giới, những nước đó sẽ có quan tâm ít hay nhiều đến những nước khác. Quyền sử dụng vốn gen này cũng sẽ có lợi cho những nước đã phát triển.

2.3 Mục đích của bảo tồn

Bảo tồn nguồn gen vật nuôi là một vấn đề cấp bách có tính chất toàn cầu. Nó chiếm một phần quan trọng trong nội dung công việc to lớn là bảo vệ môi trường.

Bảo tồn nguồn gen vật nuôi trước hết là nói tới bảo tồn đa dạng sinh học (biodiversity) của môi trường. Các nhà khoa học đang đứng trước một thử thách của thời đại đó là cống hiến vào sự chọn lọc, quyết định các giải pháp khoa học để gìn giữ và làm mới các tài sản thiên nhiên hơn là tiêu dùng hoặc tàn phá nó.

Bảo tồn (conservation) là chỉ cách quản lý của con người đối với nguồn gen vật nuôi, tài nguyên di truyền động vật, giữ sao cho nó có lợi một cách bền vững cho các thế hệ sau, tức là giữ được tiềm năng của chúng, có thể đáp ứng được nhu cầu và mong muốn của các thế hệ trong tương lai. Như vậy, nghĩa của “bảo tồn” là tích cực, nó bao gồm giữ (preservation), lưu lại (maintenance), sử dụng lâu bền, khôi phục và phát triển môi trường tự nhiên (Global Diversity Strategy, 1992).

Gìn giữ (preservation) là chỉ các kỹ thuật gìn giữ nguồn gen trong điều kiện không thay đổi, thường là tách khỏi thị trường. Đó là giữ các mẫu đặc biệt của nguồn gen động vật, con vật làm giống, tổ chức hoặc DNA với mục đích bảo đảm cho chúng khỏi bị mất đi.

Như vậy, thuật ngữ “bảo tồn” (conservation) bao gồm việc cải tiến quản lý để đạt tới sự phát triển bền vững, tránh xảy ra sự suy giảm và mất sự đa dạng di truyền.

3 Sự đa dạng sinh học ở vật nuôi.

Tính ra số lượng giống gia súc của thế giới (chỉ tính các loại gia súc chính) là vào khoảng 3000 - 4000 giống. Các loại gia súc chính có thể bao gồm: Trâu, bò, lừa, ngựa, dê, cừu, lợn...Bức tranh ấy là còn xa thực tế, bởi vì sự thiếu sót các tư liệu (nhất là tư liệu từ các nước đang phát triển), cũng vì người ta không biết chắc chắn là khi nào một quần thể đạt tới sự đồng nhất của giống. Sự uy hiếp với các giống có giá trị kinh tế thấp là sự thay thế giống và sự lai giống. Các kỹ thuật di truyền đã có những đóng góp to lớn vào việc cải tiến số lượng, chất lượng và đưa lại hiệu quả kinh

tế cao. Đó là mặt tích cực mà ai cũng phải thừa nhận, nhưng mặt trái của nó là làm xói mòn các giống vật nuôi địa phương có năng suất thấp nhưng lại rất phù hợp với sinh thái địa phương.

Việt Nam chúng ta, một đất nước nhiệt đới đã thể hiện rõ tính đa dạng di truyền, đa dạng sinh học trong thế giới động vật. Theo một chương trình điều tra mới nhất, Việt Nam hiện có 1404 loài động vật có xương sống trên cạn, trong đó có 273 loài thú, 831 loài chim, 259 loài bò sát, 82 loài lưỡng thê. Các đoàn nghiên cứu hỗn hợp của Việt Nam cùng với Quỹ bảo vệ động vật hoang dã (WWF) và Chương trình phát triển của Liên Hợp Quốc (UNDP) đã khảo sát tính đa dạng sinh học tại vùng Đông Bắc Eakar (Đăklăk), đã phát hiện được một số động vật quý hiếm như: bò tót (Bon-gaurus), bò Banteng (Bos Banteng), gấu ngựa, heo lửa... với số lượng còn khá lớn. Gần đây, Việt Nam đã công bố ảnh chụp tê giác ở Vườn Quốc gia Cát Tiên, không kém gì tê giác Java (Indonesia). Việt Nam đã phát hiện 232 loài động vật và 200 loài thực vật mới, chưa có tên trong danh mục phân loại của thế giới.

Việt Nam có giá trị về đa dạng sinh học cao với số lượng lớn các loài đặc hữu, 10% số chim, thú và cá của thế giới chỉ tìm thấy ở Việt Nam, 40% các loài thực vật ở Việt Nam thuộc loại đặc hữu. Để bảo vệ nguồn tài nguyên sinh học của Việt Nam, chính phủ đang có kế hoạch tăng số lượng các khu bảo tồn thiên nhiên từ 87 khu hiện nay lên 101 khu (chiếm 7% diện tích cả nước), đồng thời quyết định từ năm 1998 lấy ngày 26/12 hàng năm làm ngày đa dạng sinh học.

Đa dạng sinh học được biểu hiện rõ không chỉ qua số lượng các loài, đặc điểm muôn hình, muôn vẻ của các loài mà ngày càng được nghiên cứu, phát hiện qua các tập tính vô cùng đa dạng, độc đáo của từng loài động vật, sai khác, biến đổi, tiến hóa không ngừng trên từng loại tập tính, trong mọi mặt hoạt động của động vật, từ kiếm ăn, bắt mồi, cạnh tranh sinh tồn cho đến tập tính sinh sản, tập tính nuôi con, cho con bú, tìm kiếm thức ăn, bảo vệ, chống lại kẻ thù, giữ gìn, chăm lo cho sự tồn tại của gia đình mình, của cộng đồng...(hổ, báo, gấu, linh trưởng...).

Đa dạng sinh học trong động vật còn thấy rõ trong các tập tính: vỗ, bắt, giết mồi... rất khác nhau, giữa các loài, từ các thú ăn thịt cho đến các loài cá, chim, các côn trùng ăn thịt.

Đa dạng di truyền là 1 trong 3 cấp của đa dạng sinh học, bao gồm:

- Đa dạng di truyền, tức là đa dạng gen được biểu thị qua tính phong phú, vô cùng đa dạng của cấu trúc gen, các thông tin di truyền, các kiểu gen của các loài sinh vật.

- Đa dạng loài là sự phong phú, đa dạng của các loài sinh sống.

- Đa dạng sinh thái là sự phong phú, khác nhau của các kiểu sinh thái, kiểu cộng đồng được tạo thành do các sinh vật, do các mối liên hệ giữa các sinh vật với nhau và giữa sinh vật với điều kiện sống. Đó là các hệ sinh thái khác nhau của các loài sinh vật. Hiện nay ở từng nước, nhất là ở một số nước phát triển, có nền văn hóa, văn minh lâu đời, đậm nét dân tộc, người ta phải có chính sách, luật bảo vệ tài nguyên gen của đất nước, quản lý việc xuất khẩu, chuyển ra ngoài nước các tài liệu sinh vật riêng của quốc gia, cấm xuất khẩu máu, tế bào, DNA, tủy sống, hóa thạch, liên quan đến nguồn gen di truyền của từng dân tộc, từng quốc gia.

Nói chung, ngày nay mỗi quốc gia đều đã ban hành các bộ luật, các chính sách, qui định để bảo vệ nguồn gen quý, đặc hữu của nước mình, xem đây là tài nguyên, bí mật quốc gia của từng nước. Đây là loại tài nguyên hết sức quan trọng đối với thiên nhiên, kinh tế, văn hóa, tiềm năng du lịch... của từng quốc gia.

Đa dạng vật nuôi được duy trì cho tiềm năng kinh tế để đáp ứng 1 cách nhanh chóng sự thay đổi của thị trường thị hiếu người tiêu dùng hay tình trạng của môi trường.

Đa dạng vật nuôi có một vai trò văn hoá và xã hội quan trọng, vật nuôi là một phần không thể thiếu được trong các hoạt động văn hoá lễ hội. ở xã hội hiện đại chúng còn có khả năng giải trí cho con người. ở những công việc nuôi giữ chúng như là một công việc trợ giúp cho giáo dục ở vùng đô thị. Ngành công nghiệp du lịch ở nhiều nước rất quan trọng dựa vào môi trường đặc biệt mà không thể thiếu được những giống vật nuôi nội địa.

Đa dạng vật nuôi là một phần không thể thiếu được trong hệ sinh thái nông nghiệp. Mất sự đa dạng gây nên sự rủi ro lớn hơn trong hệ thống sản xuất, giảm khả năng đáp ứng với sự thay đổi, suy thoái của môi trường và có thể dẫn đến sự huỷ diệt môi trường. Những vùng mất căn cứ, hệ thống sản xuất đầu vào từ thấp đến trung bình tăng sự kết hợp vật nuôi vào sản xuất nông nghiệp là rất quan trọng trong việc sản xuất thực phẩm, ở những nước đang phát triển duy trì từ những giống thích nghi là cực kỳ quan trọng, nó có thể đạt được sự bền vững nếu không có ảnh hưởng không thuận của môi trường.

Đa dạng vật nuôi có thể mang lại những lợi ích quan trọng trong tương lai nếu chỉ dựa vào một vài giống thì rất nguy hiểm, sự tập trung một số lượng ít những giống dẫn đến làm mất gen và tổ hợp gen mà chưa có liên quan đến hiện tại nhưng có thể có liên quan đến tương lai. Bảo tồn đa dạng vật nuôi làm giảm rủi ro và nâng cao được an toàn thực phẩm. Khi nguồn gen vật nuôi bị mất không chỉ mất đi sự đa dạng vật nuôi mà còn thiếu những tổ hợp gen sẵn có đặc biệt là sự thích nghi trong môi trường đặc biệt.

Đa dạng sinh học bảo tồn cho mục đích đào tạo và nghiên cứu, bao gồm những nghiên cứu sinh học cơ bản về miễn dịch, dinh dưỡng, sinh sản, di truyền và khả năng thích nghi với sự thay đổi của môi trường và thời tiết. Những giống khác xa về di truyền được dùng để nghiên cứu về sức đề kháng và nhiễm bệnh giúp hiểu biết tốt hơn về cơ chế, gây bệnh và giúp cho việc điều trị hay quản lý bệnh tật tốt hơn. Hoạt động bảo tồn đào tạo cho mọi người chủ chăn nuôi và lần lượt tạo ra sự hiểu biết, kiến thức cao hơn và giảm được rủi ro.

4. Các hoạt động khoa học trong lĩnh vực bảo tồn quĩ gene vật nuôi.

4.1 Chiến lược toàn cầu về quản lý nguồn gen động vật

Với tầm quan trọng của nguồn gen và một phần rất lớn những động vật có nguy cơ bị mất và cũng phù hợp với nhiệm vụ của tổ chức lương thực thực phẩm (FAO) và công ước về đa dạng sinh học (CBD) một chương trình hoạt động đặc biệt về quản lý nguồn gen toàn cầu đã được FAO tiến hành vào năm 1992.

Chương trình này có nhiệm vụ thiết lập những thể chế thực tế và những hoạt động cơ bản của các nước nhằm mục đích cụ thể sau:

Phát triển và sử dụng tốt hơn nguồn gen động vật để phù hợp với môi trường sản xuất của những nước có đầu vào trung bình và thấp, để giúp cho hệ thống nông nghiệp nước đó ổn định hơn.

Khắc phục sự đe dọa nghiêm trọng về xói mòn nguồn gen của 5000 giống trong 14 loài.

Khuôn khổ của chương trình gồm 4 yếu tố sau:

Quy chế chung nhờ đó chính phủ có thể trực tiếp hướng dẫn những cải biến mới của chính sách quốc tế trong cuộc họp về nguồn gen thực phẩm và nông nghiệp.

Về mặt toàn cầu, cơ cấu cơ bản của một nước bao gồm 3 nhân tố.

- Trọng tâm và mạng lưới bao gồm thể chế của đơn vị trong tầm quốc gia chịu trách nhiệm thi hành và duy trì những mạng lưới trong nước và trao đổi với FAO về chương trình nguồn gen động vật.

- Thể chế của những người có liên quan đến những nhóm tham gia.
- Sử dụng an toàn hệ thống thông tin đa dạng vật nuôi.

Một chương trình cho những hoạt động chuyên môn, gồm 6 yếu tố:

- Đặc tính
- Bảo tồn và sử dụng bằng phương pháp in-situ
- Bảo tồn in-situ và ex-situ
- Hướng dẫn và kế hoạch hoạt động
- Phát triển phương tiện liên lạc và hệ thống thông tin,
- Hợp tác và đào tạo

Những cán bộ tinh thông để hướng dẫn sự phát triển của chiến lược và lôi kéo tối đa các nước tham gia.

Như đã nói ở trên một trong những mục tiêu của chương trình này là đưa ra hướng dẫn cho các nước sử dụng. Bản hướng dẫn đầu tiên (FAO, 1996) xây dựng để giúp cho các nước nhận biết được những nhân tố chủ yếu và mục tiêu của kế hoạch quản lý nguồn gen động vật và phác thảo đường lối chính sách chiến lược đề ra được mục tiêu, bản hướng dẫn đầu tiên đã được bổ sung bằng 4 bản hướng dẫn tiếp theo với mục đích chủ yếu là thực hiện chính sách về mặt hành chính và chuyên môn với những vấn đề sau:

Đặc tính, mô tả hệ thống chăn nuôi, sử dụng và phát triển giống một cách chủ động, quản lý quần thể đang bị đe dọa, cung cấp hướng dẫn về quản lý ở những vùng như bản hướng dẫn đầu tiên. Bản hướng dẫn này xem xét đến những khía cạnh chức năng và kỹ thuật đặc biệt cho việc quản lý quần thể đang bị đe dọa

4.2 Những chiến lược bảo tồn

Chiến lược bảo tồn có thể được chia thành các phương pháp: Bảo tồn vật nuôi bằng phương pháp in-situ - đó là bảo tồn vật nuôi ngay trong môi trường mà nó sinh ra và lớn lên hoặc là bảo tồn ex-situ là tất cả các trường hợp bảo tồn khác. Sau đó có thể phân chia tiếp thành bảo tồn ex-situ trong phòng thí nghiệm và bảo tồn lạnh.

CBD đã dành ưu tiên rõ rệt cho bảo tồn in-situ và cho đó là sự phục hồi và duy trì những loài hay những giống trong môi trường mà chúng sinh ra và lớn lên. Chiến lược này là thích hợp nhất vì con vật tiếp tục được tiến hóa trong môi trường sống ban đầu của nó.

Bảo tồn ex-situ đó là:

- Duy trì những quần thể nhỏ, được quản lý chặt chẽ ở ngoài môi trường thích nghi của nó bằng phương pháp nhân tạo hay bán nhân tạo.

- Bảo tồn lạnh vật chất di truyền như là tinh trùng, phôi, DNA, tế bào hoặc trứng: bảo tồn ex-situ không đem lại sự tiến triển của trình tiến hoá mà những giống có thể có được ở môi trường tự nhiên của nó.

Bảo tồn in-situ và ex-situ là bổ sung cho nhau, không loại trừ nhau, quyết định sẽ phụ thuộc vào sự đánh giá tình trạng và khả năng để sử dụng chiến lược nào. Ví dụ, bảo quản tinh đông lạnh đóng một vai trò quan trọng trong sự trợ giúp chiến lược bảo tồn vật nuôi bằng phương pháp *in vivo*.

4.3 Những công việc cụ thể.

4.3.1 Xác định và giữ mẫu các giống bị uy hiếp.

Xác định quần thể vật nuôi đang bị uy hiếp, ước lượng qui mô đàn, cơ cấu, tỷ lệ thay chuyên, kỹ thuật giữ mẫu, tránh đồng huyết, tiêu chuẩn chọn lọc, số lượng mẫu tinh, phôi hoặc trứng trên số con cho và con giống, tập hợp mẫu máu, DNA chiết xuất, tập hợp các tự liệu thích hợp cho giữ lâu dài và sau đó cho sử dụng.

5.3.2 Giữ tế bào.

Giữ tinh của hầu hết các gia súc và phôi của một số loại. Giữ DNA trong thời gian dài là phương pháp dễ dàng và thực tế. Chọn lọc “vật cho” (đực và cái), đánh giá, xử lý, làm đông khô và làm ký hiệu các mẫu tinh và phôi.

4.3.3 Thú y.

Kỹ thuật chẩn đoán bệnh, khám nghiệm cho vận chuyển, cách ly và đánh dấu hiệu các mẫu máu, không cho bệnh lây lan.

4.3.4 Ngân hàng quỹ gen vật nuôi.

Tư liệu quỹ gen có ở Hanover (Đức) chủ yếu là của Châu Âu. Các tư liệu di truyền của các nước đang phát triển nằm trong tư liệu của FAO. Ngoài ra ở các nước như Acentina, Braxin, Ấn Độ, Trung Quốc....có

ngân hàng tư liệu di truyền của mỗi nước. Ngoài ra còn có ngân hàng tư liệu di truyền đặc biệt như Trung tâm thông tin Trâu Quốc tế ở Bangkok, thường sử dụng các phương pháp như ghi lí lịch, các đặc điểm, thống kê (năm) và các tư liệu khác. Địa mêm máy vi tính cũng được sử dụng.

Một số phương pháp mới đang được thử nghiệm để cải tiến di truyền các giống nội bản, bao gồm nhân giống hạt nhân, kỹ thuật gây rụng trứng nhiều, cấy truyền phôi, nhân bản vô tính.....

4.4 Các nhiệm vụ trước mắt.

Hàng loạt nhiệm vụ đang đặt ra trước mắt nhưng cần phải chú trọng ngay những công việc sau:

- Ưu tiên trước hết phải đặt ra là phải tư liệu hóa các giống vật nuôi ở các nước đang phát triển, nhất là những giống không nằm trong cơ cấu của tài nguyên di truyền quốc gia, các giống nội bản hiện đang giảm. Xác định tỷ lệ sụt giảm, sự phân bố và tư liệu về sự biến mất....

- Đặc điểm di truyền của các giống đang bị đe dọa, ở các nước đang phát triển thường ít được tư liệu hóa, nhất là đặc điểm thích nghi của nó.

- Các thỏa thuận (biên bản) cần được chính thức hóa để đảm bảo quyền sở hữu trong ngân hàng quỹ gen vật nuôi. Các thủ tục thú y cũng rất cần để đảm bảo không làm lây lan các bệnh trong quá trình đưa các mẫu di truyền đến ngân hàng khu vực.

- Các tư liệu về giống nội bản cần phải được xác nghiệm và thẩm tra để tiện sử dụng, chú ý nhất đến các giống chưa được mô tả (tính năng sản xuất và thích nghi).

- Cần phải lập danh sách báo động của thế giới để gây sự chú ý của các chính phủ và các tổ chức bảo vệ môi trường. Sự hỗ trợ về kỹ thuật và tài chính cho các nước đang phát triển là rất cần thiết để giữ các đàn giống và tiến hành chương trình bảo tồn vật nuôi.

- Cần thiết nghiên cứu về khoảng cách di truyền để hiểu biết các mối quan hệ giữa các giống có tên khác nhau ở các vùng khác nhau, qua đó hiểu rõ thêm tính thích nghi và sức sản xuất của chúng.

- Đệ trình chiến lược công tác giống vật nuôi đến các chính phủ.

- Xác định chương trình bảo tồn quỹ gen vật nuôi trong mối quan hệ với môi trường sống.

Chúng ta đã chứng kiến lợi ích của sự phát triển bên cạnh đó là khuynh hướng muốn trở lại với thiên nhiên, với những Hội xanh, hướng

về những người nông dân...Việc nâng cao mức sống, con người phải trả giá bằng sự ô nhiễm môi trường. Mưa axit đã ảnh hưởng tai hại đến rừng và các băng xanh thành phố. Thiên nhiên đang báo động về sự ô nhiễm nước ngọt, nước biển, không khí và đất đai, sự mất đi các vùng hoang dã và đặc biệt sự biến mất tính đa dạng sinh học và sự chết chóc của các loài, các quần thể và hệ sinh thái. Các nhà khoa học và toàn thể mọi người đều phải biết đối phó với sự cách biệt khoảng cách của cái muốn và cái cần, giữ ý muốn bảo tồn và sự hạn chế của kinh phí. Con người trên con đường phát triển của mình đang đối mặt với những thử thách gìn giữ môi trường, trong đó con người đang sống, phát triển và sáng tạo. Các nhà khoa học sinh vật và chăn nuôi cũng như ai có liên quan phải tìm mọi biện pháp duy trì cho được hệ thống môi sinh phù hợp để bảo tồn sự sống của sinh vật.

5. Thực trạng bảo vệ nguồn gen vật nuôi ở Việt nam

(Đoàn Năng - Vụ trưởng Vụ PC- Bộ KN&CN)

Việt Nam là một trong những nước rất phong phú, đa dạng về các hệ sinh thái, về các loài và về tài nguyên di truyền. Hàng ngàn năm qua và ngay cả hiện nay cũng như một số thập kỷ sắp tới người dân Việt Nam sống chủ yếu phải dựa vào tài nguyên thiên nhiên, đặc biệt là tài nguyên sinh học. Không chỉ ở Việt Nam mà ở hầu hết các nước trên thế giới, các sản phẩm nông nghiệp, lâm nghiệp, thủy sản v.v... thực chất là khai thác từ nguồn đa dạng sinh học.

Ngày nay tất cả các nước trên thế giới và cả Việt Nam đều ý thức được giá trị to lớn về kinh tế, khoa học, văn hoá, xã hội của đa dạng sinh học đối với sự phát triển hiện tại và tương lai của mỗi quốc gia và của toàn thể xã hội loài người; đồng thời cũng ý thức được trách nhiệm nặng nề đối với việc bảo vệ sự đa dạng sinh học trong bối cảnh đa dạng sinh học ở nhiều nơi trên lãnh thổ mỗi quốc gia và trên toàn cầu đang bị suy giảm nghiêm trọng.

Cho đến nay, đông đảo các quốc gia đã phê chuẩn Công ước toàn cầu về đa dạng sinh học và xây dựng kế hoạch quốc gia về bảo vệ sự đa dạng sinh học.

Bảo tồn các nguồn gen động vật, thực vật và vi sinh vật là một trong những nhiệm vụ trọng tâm của quá trình bảo vệ sự đa dạng sinh học ở mỗi quốc gia.

Trong phần này, chúng tôi tập trung trình bày một số ý kiến về thực trạng và phương hướng hoàn thiện các quy định của pháp luật Việt Nam về quản lý và bảo tồn các nguồn gen.

5.1 Thực trạng các quy định của pháp luật Việt Nam về bảo vệ các nguồn gen.

5.1.1 Giai đoạn trước năm 1996

Hoạt động quản lý và bảo tồn các nguồn gen động vật và thực vật và vi sinh vật luôn luôn là điều kiện bảo đảm hiệu quả của các hoạt động sản xuất, kinh doanh các sản phẩm nông nghiệp, lâm nghiệp, thủy sản và các hoạt động bảo vệ môi trường, đặc biệt là hoạt động bảo vệ đa dạng sinh học. Nhưng ngược lại cũng có thể nói, thực chất hiệu quả các hoạt động bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản, bảo vệ và phát triển rừng, bảo vệ và kiểm dịch thực vật, về thú y, về bảo vệ môi trường, đặc biệt là về bảo tồn đa dạng sinh học, đều tác động tích cực, góp phần bảo tồn các nguồn gen động vật, thực vật và vi sinh vật.

Các văn bản pháp luật về các hoạt động nêu trên đều có đề cập hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp đến vấn đề bảo vệ các nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật.

Trong lĩnh vực bảo vệ và phát các nguồn lợi thủy sản

Các văn bản pháp luật về bảo vệ và phát triển các nguồn lợi thủy sản khẳng định:

- Các tổ chức, cá nhân có quyền khai thác nguồn lợi thủy sản thiên nhiên theo quy định của pháp luật, được giao sử dụng các ống nước ổn định lâu dài hoặc có thời hạn để nuôi trồng, khai thác thủy sản với các hình thức phù hợp nhằm bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản;

- Nghiêm cấm các hành vi gây hại đến nguồn lợi, môi trường sống của các loài thủy sản, đến bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản;

- Nghiêm cấm hủy hoại nguồn lợi thủy sản, gây ô nhiễm môi trường sống của các loài thủy sản;

- Cấm đánh bắt ở các khu vực bãi đẻ, nơi sinh sống tập trung của các loài thủy sản thời kỳ còn bé, có sức bổ sung lớn cho nguồn lợi cho khu vực;

- Cấm đánh bắt, tổ chức tiêu thụ các loài thủy sản có giá trị kinh tế cao, quý hiếm hoặc có nguy cơ tuyệt chủng trong danh mục các đối tượng được bảo vệ;

- Việc nhập các giống thủy sản mới vào Việt Nam và việc di giống, thuần hoá giống do Bộ Thủy sản quy định;

- Tổ chức, cá nhân sản xuất, kinh doanh thủy sản được hưởng lợi ích vật chất do công sức của mình làm ra, được quyền chuyển nhượng, bán thành quả lao động, giá in công sức của mình và có trách nhiệm bảo vệ, phát triển nguồn lợi thủy sản, nộp thuế và làm các nghĩa vụ khác theo quy định của pháp luật.

Ngoài ra, các văn bản pháp luật trong lĩnh vực này còn quy định rõ trách nhiệm của các cơ quan nhà nước các cấp, của mọi tổ chức, cá nhân trong việc bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản; quy định các biện pháp thưởng, phạt trong việc chấp hành các quy định của nhà nước về bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản.

5.1.2. Giai đoạn từ năm 1996 đến khi ban hành Pháp lệnh Giống cây trồng, Pháp lệnh Giống vật nuôi

Trong giai đoạn này, các quy định của pháp luật về bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản, bảo vệ và phát triển rừng, bảo vệ và kiểm dịch thực vật, về thú y, về bảo vệ môi trường, đặc biệt là về bảo tồn đa dạng sinh học, tiếp tục từng bước được hoàn thiện, tiếp tục trực tiếp hoặc gián tiếp đề cập và tác động đến việc bảo tồn các nguồn gen động thực vật và vi sinh vật. Song trong giai đoạn này, pháp luật về bảo tồn các nguồn gen động thực vật và vi sinh vật có bước phát triển đáng ghi nhớ. Cụ thể là năm 1996 là năm ban hành Nghị định số 07/CP ngày 5/2/1996 của Chính phủ về quản lý giống cây trồng, Nghị định số 14/CP ngày 19/3/1996 của Chính phủ về quản lý giống vật nuôi. Đây là lần đầu tiên vấn đề bảo tồn các nguồn gen động vật nuôi và cây trồng được quy định một cách tương đối đầy đủ và có hệ thống trong các văn bản quy phạm pháp luật chuyên ngành cấp Chính phủ. Năm 2001 Chính phủ ban hành Nghị định số 13/2001/NĐ-CP (ngày 20/4) về bảo hộ giống cây trồng mới.

Nhiều văn bản cấp Bộ, ngành hướng dẫn thi hành các Nghị định nêu trên cũng được ban hành.

Nghị định số 07/CP ngày 5/2/1996 của Chính phủ về quản lý giống cây trồng khẳng định:

- Nguồn gen (nguồn thực liệu) để chọn tạo giống là tài sản quốc gia do Nhà nước thống nhất quản lý, bảo quản tại các cơ quan nghiên cứu khoa học được chỉ định;

- Nhà nước khuyến khích các tổ chức cá nhân tìm kiếm khai thác, sử dụng, trao đổi, bảo vệ và làm phong phú thêm nguồn gen có lợi cho quốc kế dân sinh;

- Bộ NN&PTNT quy định danh mục các nguồn gen quý hiếm và quy chế quản lý việc trao đổi, khai thác, sử dụng nguồn gen trong danh mục này;

- Bộ NN&PTNT quy định danh mục giống cây trồng quý hiếm và nguồn thực liệu tạo giống không được xuất khẩu ra nước ngoài và công bố trong từng thời kỳ;

- Bộ NN&PTNT thực hiện quản lý việc sưu tập, bảo tồn quỹ gen, nghiên cứu, chọn tạo giống, khảo nghiệm, sản xuất thử, công nhận giống mới, sản xuất kinh doanh, xuất nhập khẩu kiểm định, kiểm nghiệm, kiểm dịch, quản lý chất lượng giống cây trồng và có trách nhiệm tổ chức chỉ đạo các hoạt động về giống cây trồng trong phạm vi cả nước;

- Bộ NN&PTNT trình Thủ tướng Chính phủ ban hành chế độ quản lý nguồn gen, xây dựng tiêu chuẩn Việt Nam về giống cây trồng để trình cơ quan có thẩm quyền ban hành .v.v..

Nghị định còn quy định rõ trách nhiệm của các cơ quan chính quyền các cấp, của các tổ chức, cá nhân trong sản xuất, kinh doanh giống cây trồng, quyền của người tạo giống cây trồng mới được đăng ký với Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường để được giữ bản quyền theo quy định của pháp luật.

Nghị định số 14/CP ngày 19/3/1996 của Chính phủ về quản lý giống vật nuôi khẳng định:

- Nhà nước thống nhất quản lý giống vật nuôi bao gồm việc bảo hộ, bồi dục, phát triển tài nguyên giống, quản lý sản xuất kinh doanh giống và xuất nhập khẩu giống;

- Tăng cường cơ sở vật chất - kỹ thuật cho các cơ quan, tổ chức làm nhiệm vụ bảo tồn nguồn gen giống vật nuôi;

- Đào tạo cán bộ chuyên ngành làm nhiệm vụ bảo tồn nguồn gen giống vật nuôi, chọn tạo, khảo nghiệm, sản xuất, kinh doanh giống vật nuôi; - Bộ NN & PTNT, Bộ Thủy sản theo chức năng, quyền hạn của mình quy định danh mục giống vật nuôi để bảo tồn, chọn lọc, bồi dục, sản xuất giống và quyết định bổ sung hoặc loại bỏ các giống vật nuôi trong danh mục khi cần thiết.

Sau khi ban hành 02 văn bản cấp Chính phủ về quản lý giống cây trồng và về quản lý giống vật nuôi, ngày 30/12/1997 Bộ KH&CN&MT (nay là Bộ KH&CN) đã ban hành Quy chế quản lý và bảo tồn nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật nói chung.

Quy chế quản lý và bảo tồn nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật ngày 30/12/1997 khẳng định:

- Nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật là tài nguyên quốc gia, là bộ phận hợp thành quan trọng trong việc bảo vệ đa dạng sinh học, phục vụ nghiên cứu và phát triển khoa học và kinh tế của các ngành;

- Hình thức bảo tồn bao gồm: insitu, exsitu, on-fann, invivo, invitro;

- Ưu tiên bảo tồn, lưu giữ các nguồn gen quý, hiếm, đặc thù của Việt Nam và đang có nguy cơ bị mất;

- Đối tượng bảo tồn, lưu giữ còn bao gồm các nguồn gen đã được đánh giá các chỉ tiêu sinh học, các nguồn gen cần cho công tác nghiên cứu, lai tạo giống và phục vụ đào tạo, các nguồn gen được nhập từ nước ngoài đã được ổn định và thuần hoá ở Việt Nam, có ý nghĩa quan trọng trong sản xuất.

Quy chế này còn quy định cả nội dung công tác quản lý về bảo tồn, lưu giữ các nguồn gen, hệ thống các cơ quan tham gia bảo tồn, lưu giữ các nguồn gen, trách nhiệm của các cơ quan nhà nước ở trung ương và địa phương và nguồn tài chính cho công tác này.

5.1.3 Pháp lệnh Giống vật nuôi

Pháp lệnh Giống vật nuôi được Ủy ban Thường vụ Quốc hội thông qua ngày 24/3/2004, quy định về quản lý và bảo tồn nguồn gen vật nuôi, nghiên cứu, chọn, tạo, khảo nghiệm, kiểm định, công nhận giống vật nuôi mới; sản xuất, kinh doanh giống vật nuôi; quản lý chất lượng giống vật nuôi. Theo Pháp lệnh Giống vật nuôi:

- Một trong những nguyên tắc hoạt động về giống vật nuôi là bảo tồn và khai thác hợp lý nguồn gen vật nuôi, bảo đảm tính đa dạng sinh học, kết hợp giữa lợi ích trước mắt và lợi ích lâu dài, bảo đảm lợi ích chung của toàn xã hội;

- Ưu tiên đầu tư cho các hoạt động sau đây:

- + Thu thập, bảo tồn nguồn gen vật nuôi quý hiếm.

- + Nghiên cứu, chọn, tạo, khảo nghiệm, kiểm định giống vật nuôi mới và nuôi giữ giống vật nuôi thuần chủng, đàn giống cụ kỵ, đàn giống ông bà, đàn giống hạt nhân có năng suất cao, chất lượng cao;

- Khuyến khích và hỗ trợ các tổ chức, cá nhân được giao nhiệm vụ nhân giống, nuôi giữ giống vật nuôi thuần chủng, đàn giống cụ kỵ, đàn giống ông bà, đàn giống hạt nhân;

- Khuyến khích các tổ chức, cá nhân đầu tư nghiên cứu khoa học, áp dụng các tiến bộ khoa học và công nghệ về giống vật nuôi, xây dựng cơ sở hạ tầng, phát triển nguồn lực trong hoạt động về giống vật nuôi;

- Khuyến khích các tổ chức, cá nhân sản xuất, sử dụng giống vật nuôi, tham gia bảo hiểm giống vật nuôi;

- Các hành vi bị nghiêm cấm bao gồm:

+ Sản xuất, kinh doanh giống già, giống vật nuôi không đạt tiêu chuẩn chất lượng, giống không có trong danh mục giống vật nuôi được phép sản xuất, kinh doanh;

+ Phá hoại, chiếm đoạt nguồn gen vật nuôi, xuất khẩu trái phép nguồn gen vật nuôi quý hiếm;

+ Sản xuất kinh doanh giống vật nuôi gây hại cho sức khoẻ con người, nguồn gen vật nuôi, môi trường, hệ sinh thái;...

Pháp lệnh này cũng quy định rõ nguồn gen vật nuôi là tài sản quốc gia do Nhà nước thống nhất quản lý; Nguồn gen vật nuôi ở khu bảo tồn của Nhà nước khi có nhu cầu khai thác, sử dụng phải được phép của Bộ NN&PTNT, Bộ Thủy sản; các tổ chức, cá nhân có trách nhiệm tham gia vào việc quản lý nguồn gen vật nuôi tại địa phương. Nội dung bảo tồn nguồn gen vật nuôi bao gồm:

- Điều tra, khảo sát, thu thập nguồn gen vật nuôi phù hợp với tính chất và đặc điểm của từng loài vật nuôi;

- Bảo tồn lâu dài và an toàn nguồn gen đã được xác định phù hợp với đặc tính sinh học cụ thể của từng loài vật nuôi;

- Đánh giá nguồn gen theo các chỉ tiêu sinh học và giá trị sử dụng;

- Xây dựng cơ sở dữ liệu, hệ thống thông tin tư liệu nguồn gen vật nuôi.

Nhà nước đầu tư và hỗ trợ việc thu thập, bảo tồn nguồn gen vật nuôi quý hiếm, xây dựng cơ sở lưu giữ nguồn gen vật nuôi quý hiếm, bảo tồn nguồn gen vật nuôi quý hiếm tại địa phương. Bộ NN&PTNT, Bộ Thủy sản định kỳ công bố danh mục nguồn gen vật nuôi quý hiếm cần bảo tồn.

Việc trao đổi nguồn gen vật nuôi quý hiếm để phục vụ nghiên cứu, chọn, tạo giống vật nuôi mới và sản xuất kinh doanh phải theo quy định của Bộ NN&PTNT, Bộ Thủy sản.

Việc trao đổi quốc tế nguồn gen vật nuôi quý hiếm phải được phép của Bộ NN&PTNT, Bộ Thủy sản.

Từ nội dung của các văn bản nêu trên chúng ta có thể rút ra một số nhận xét sơ bộ như sau:

Vấn đề bảo tồn các nguồn gen đã được nhà nước Việt Nam quan tâm và cũng đã được thể hiện trong các văn bản pháp luật khá sớm và ngày càng bao quát đầy đủ hơn, cụ thể hơn.

Trong giai đoạn trước năm 1996 vấn đề bảo tồn các nguồn gen được quy định tản mạn ở rất nhiều văn bản pháp luật thuộc nhiều lĩnh vực khác nhau. Các luật và pháp lệnh trong các lĩnh vực về bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản, về bảo vệ và phát triển rừng, bảo vệ và kiểm dịch thực vật, về thú y và về bảo vệ môi trường chỉ có các quy định chung chung, có tính nguyên tắc, thậm chí có khi chỉ gián tiếp đề cập tới việc bảo tồn các nguồn gen, mặc dù các hoạt động trong các lĩnh vực này có tác động rất lớn đến việc bảo tồn các nguồn gen, góp phần quan trọng vào việc bảo tồn các nguồn gen.

Trong giai đoạn này, các quy định chuyên ngành về bảo tồn các nguồn gen chỉ được ghi nhận trong một vài văn bản cấp Bộ, ngành như Quyết định số 582/NSY ngày 2/11/1987 quy định tạm thời về nhiệm vụ, quyền hạn của các cơ quan bảo tồn, lưu giữ, sử dụng nguồn gen và giống động thực vật và vi sinh vật với nội dung hết sức sơ sài.

Bắt đầu từ năm 1996, các quy định chuyên ngành về bảo tồn các nguồn gen đã được ghi nhận trong các văn bản quy phạm pháp luật có tầm hiệu lực cao hơn. Đó là các nghị định của Chính phủ về quản lý giống cây trồng, quản lý giống vật nuôi và tiếp tục được quy định cụ thể hơn, ngày càng đầy đủ hơn trong Quy chế quản lý và bảo tồn nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật do Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường (nay là Bộ KH&CN) ban hành.

Với việc ban hành Pháp lệnh Giống cây trồng và Pháp lệnh Giống vật nuôi năm 2004, lần đầu tiên ở Việt Nam các quy định chuyên ngành về quản lý, bảo tồn nguồn gen thực vật, động vật được quy định khá đầy đủ trong các văn bản có hiệu lực pháp lý cao, với nội dung đầy đủ, rõ ràng hơn. Song cần lưu ý rằng hai pháp lệnh này chỉ đề cập việc quản lý và bảo tồn giống cây trồng và giống vật nuôi, không bao quát hết các nguồn gen động thực vật và vi sinh vật cần bảo tồn. Hơn nữa để triển khai thực hiện được hai pháp lệnh này trong thực tiễn thì phải chờ ban hành nhiều văn bản cấp Chính phủ và cấp Bộ, ngành để cụ thể hoá và hướng dẫn.

Cho đến thời điểm này, các quy định pháp luật hiện hành của Việt Nam về bảo tồn các nguồn gen vẫn còn chủ yếu là các quy định có tính chất chung, tính nguyên tắc, chưa được cụ thể hoá ở mức cần thiết nhằm bảo đảm tính thống nhất và hiệu quả trong thi hành; nhiều vấn đề quan trọng chưa được pháp luật quy định. Ví dụ vấn đề bảo tồn nguồn gen các cây con làm thuốc trong các văn bản pháp luật được đề cập khá mờ nhạt, thực chất chỉ lướt qua, không có chỗ nào quy định chi tiết hay hướng dẫn cụ thể để triển khai trên thực tế, tài nguyên di truyền cây con làm thuốc ở Việt Nam có giá trị rất lớn, song cho đến nay trong các luật, pháp lệnh chỉ có một vài quy định có tính chất chủ trương, nguyên tắc, chưa có văn bản nào của Chính phủ, Thường vụ Quốc hội hay Quốc hội để điều chỉnh riêng và chi tiết vấn đề khai thác, sử dụng, bảo tồn cho phù hợp với đặc thù của lĩnh vực này, đặc biệt phải phù hợp với yêu cầu bảo vệ và khai thác tri thức y học cổ truyền của các dân tộc sống trên lãnh thổ Việt Nam.

Vấn đề bảo hộ quyền tác giả và quyền sở hữu công nghiệp của các tổ chức, cá nhân tạo giống mới từng bước được quy định đầy đủ để khuyến khích và bảo vệ quyền, lợi ích hợp pháp của chủ sở hữu, của các tác giả, nhưng chưa đề cập đến vấn đề bảo hộ quyền tác giả và quyền sở hữu công nghiệp của các tổ chức, cá nhân lai tạo giống vật nuôi mới.

Trong một số hành vực, pháp luật đã có quy định gắn lợi ích của cộng đồng, của tổ chức, cá nhân với việc bảo vệ đa dạng sinh học như bảo vệ và phát triển rừng, bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản, bảo vệ và kiểm dịch thực vật v.v... Song hiệu quả của công tác này đang còn phải bàn luận và xem xét thêm. Có nhiều ý kiến cho rằng việc chia sẻ lợi ích cho cộng đồng địa phương, cho các tổ chức, cá nhân liên quan chưa thỏa đáng, có những trường hợp chưa được pháp luật quy định và trên thực tế cũng không được thực hiện. Hai pháp lệnh về giống cây trồng và giống vật nuôi mới ban hành tập trung quy định điều kiện sản xuất kinh doanh giống cây trồng, giống vật nuôi, nhưng không quy định rõ và cụ thể vấn đề chia sẻ lợi ích cho cộng đồng địa phương, cho các tổ chức, cá nhân liên quan.

5.2 Phương hướng hoàn thiện pháp luật Việt Nam về bảo vệ các nguồn gen

Như đã trình bày ở mục I, hệ thống các quy định của pháp luật Việt Nam về bảo tồn các nguồn gen tuy đã được hình thành và từng bước được hoàn thiện, nhưng còn có nhiều điểm khiếm khuyết và bất cập. Chính những khiếm khuyết và bất cập đó góp phần không nhỏ vào việc hạn chế hiệu quả của các hoạt động bảo tồn các nguồn gen.

Đề góp phần đẩy mạnh và nâng cao hiệu quả các hoạt động bảo tồn các nguồn gen, cần phải tiếp tục hoàn thiện hệ thống các quy định hiện hành của pháp luật Việt Nam về vấn đề này.

Theo quan điểm của chúng tôi, việc tiếp tục hoàn thiện hệ thống các quy định của pháp luật Việt Nam về bảo tồn các nguồn gen cần quán triệt một số quan điểm cơ bản sau đây:

- Phải bảo đảm các quy định của pháp luật có tính thống nhất, đầy đủ, đồng bộ, hợp lý, rõ ràng, cụ thể và phù hợp với đặc thù của từng lĩnh vực.

- Hoạt động quản lý nhà nước phải phù hợp với cơ chế thị trường, yêu cầu của quá trình thương mại hóa.

- Cần đẩy mạnh xã hội hóa hoạt động trong lĩnh vực này; gắn tối đa lợi ích của từng cấp, từng ngành, từng địa phương, từng tổ chức, cá nhân với hoạt động bảo tồn các nguồn gen trên cơ sở xử lý thật hài hòa và thỏa đáng mối quan hệ giữa lợi ích nhà nước, lợi ích cộng đồng địa phương, lợi ích của tổ chức, cá nhân trong việc bảo tồn các nguồn gen. Về bản chất, đây là vấn đề chia sẻ lợi ích thỏa đáng cho các cộng đồng, tổ chức, cá nhân liên quan nhằm nâng cao hiệu quả công tác bảo tồn các nguồn gen.

- Bảo đảm tính hiệu lực và hiệu quả thực tế của hệ thống các quy định của pháp luật; xử lý thật nghiêm khắc các hành vi vi phạm pháp luật về tồn các nguồn gen.

- Bảo vệ chủ quyền, lợi ích quốc gia trên cơ sở đẩy mạnh hợp tác quốc tế, nghiêm túc thực hiện các cam kết quốc tế liên quan đến bảo tồn các nguồn gen.

Quán triệt nội dung của các quan điểm cơ bản nêu trên, chúng ta cần nghiên cứu để sớm thực hiện một số giải pháp cụ thể sau đây:

- Cần sớm ban hành các văn bản hướng dẫn thi hành các quy định của pháp lệnh Giống cây trồng, pháp lệnh Giống vật nuôi về vấn đề quản lý và bảo tồn các nguồn gen cây trồng và các nguồn gen vật nuôi.

- Cần nghiên cứu xây dựng các quy định về quản lý và bảo tồn các nguồn gen thực vật không phải là cây trồng, nguồn gen động vật không phải là vật nuôi; cần bảo tồn cả các nguồn gen vi sinh vật. Những vấn đề này trước mắt có thể bổ sung vào hệ thống các văn bản quy phạm pháp luật về bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản, bảo vệ và phát triển rừng, bảo vệ và kiểm dịch thực vật, về thú y, về bảo vệ môi trường sinh thái v.v... Về lâu dài, những vấn đề này nên được quy định thống nhất trong luật Đa dạng sinh học đang được triển khai soạn thảo.

- Nên đặt vấn đề bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp và quyền tác giả đối với giống giống vật nuôi mới. Sở dĩ đặt vấn đề bảo hộ quyền sở hữu công nghiệp và quyền tác giả đối với giống vật nuôi mới là vì quyền tác giả, quyền sở hữu công nghiệp đối với giống giống vật nuôi mới nếu được công nhận và được bảo hộ thì sẽ có tác dụng rất lớn trong việc khuyến khích hoạt động đầu tư sáng tạo ra các giống mới hữu ích phục vụ cho yêu cầu phát triển kinh tế.

- Khẩn trương hoàn chỉnh đề trình Thủ tướng Chính phủ ban hành Quy chế quản lý an toàn các sinh vật đã biến đổi gen và sản phẩm của chúng.

Các hoạt động nghiên cứu và triển khai, phát triển, quản lý, chuyển giao, vận chuyển, sử dụng và giải phóng các sinh vật đã bị biến đổi gen do kết quả của công nghệ sinh học hiện đại và các sản phẩm của chúng có thể có ảnh hưởng bất lợi đối với bảo tồn các nguồn gen và sử dụng bền vững đa dạng sinh học cũng như đối với môi trường và sức khoẻ con người. Vì vậy chúng ta rất cần quản lý hết sức chặt chẽ các hoạt động này trên cơ sở một văn bản pháp luật tương ứng.

Nghiên cứu soạn thảo trình cấp có thẩm quyền văn bản quy định về bảo vệ, khai thác các cây và các con động vật, vi sinh vật dùng để làm thuốc chữa bệnh và tri thức y học cổ truyền. Việt Nam có rất nhiều loài cây và con mà nhân dân ta đã, đang và sẽ có thể dùng làm thuốc. Đây là tài nguyên quý báu của dân tộc ta, có giá trị to lớn về y học, về kinh tế v.v.. Song do nhiều nguyên nhân vấn đề này chưa được quan tâm đúng mức, chưa được khai thác và sử dụng hợp lý văn bản này phải bao gồm cả việc chia sẻ một cách thoả đáng lợi ích cho cộng đồng dân cư các địa phương, cho từng tổ chức và từng người dân nắm giữ các kiến thức về cây, con làm thuốc, về y học cổ truyền.

Cần triển khai nghiên cứu để tiếp tục và sớm hoàn thiện hệ thống pháp luật về bảo vệ môi trường (cả luật và hệ thống các văn bản dưới luật), đặc biệt cần sớm ban hành Luật Đa dạng sinh học. Bảo vệ môi trường nói chung và bảo vệ đa dạng sinh học nói riêng có hiệu quả thì đương nhiên tạo điều kiện và góp phần quan trọng vào việc bảo đảm hiệu quả cao của công tác bảo tồn các nguồn gen động thực vật và vi sinh vật.

Phụ lục “Qui chế quản lý và bảo tồn nguồn gene thực vật, động vật và vi sinh vật”

(Ban hành kèm theo Quyết định số 2177/1997/QĐ-BKHCN&MT ngày 30 tháng 12 năm 1997)

Bảo tồn, lưu giữ nguồn gen động vật, thực vật và vi sinh vật là bảo vệ tài nguyên di truyền nhằm cung cấp nguồn nguyên liệu khởi thủy phục vụ công tác nghiên cứu khoa học, cải tạo giống, đảm bảo duy trì được tính đa dạng sinh học và những tiền đề cần thiết về tài nguyên sinh học cho sự phát triển bền vững nền nông nghiệp hiện đại cũng như trong tương lai.

I. Quy định chung

1. Nguồn gen được quy định trong Quy chế này là những sinh vật sống hoàn chỉnh hay bộ phận sống của chúng mang thông tin di truyền sinh học có khả năng tạo ra hay tham gia tạo ra giống mới của thực vật, động vật và vi sinh vật.

2. Nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật là tài nguyên quốc gia và là một bộ phận hợp thành quan trọng trong việc bảo vệ tính đa dạng sinh học, phục vụ cho hoạt động nghiên cứu và phát triển khoa học và kinh tế của các ngành: nông nghiệp, lâm nghiệp, thủy sản, công nghiệp thực phẩm, y tế.

3. Bảo tồn lưu giữ tài nguyên di truyền được tiến hành dưới nhiều hình thức khác nhau (Insitu, Exsitu, on farm, in vivo, in vitro) tại các cơ sở, tổ chức, các thành phần kinh tế khác (trong đó có cả tư nhân) và được liên kết thành một mạng lưới dưới sự quản lý thống nhất của Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường.

II. Nội dung công tác quản lý về bảo tồn, lưu giữ nguồn gen

1. Điều tra, khảo sát và thu thập các nguồn gen thích hợp với tính chất và đặc điểm của từng cây, con và vi sinh vật.

3. Bảo tồn lâu dài và an toàn các nguồn gen đã thu thập được thích hợp với các đặc tính sinh học cụ thể của từng đối tượng cần giữ, trình độ kỹ thuật, khả năng thiết bị của cơ quan có nhiệm vụ lưu giữ và quy mô cần bảo tồn.

3. Đánh giá các nguồn gen theo các chỉ tiêu sinh học cụ thể phù hợp với từng đối tượng.

4. Tư liệu hoá: các nguồn gen sau khi đánh giá đều phải tư liệu hoá dưới các hình thức: phiếu điều tra, phiếu miêu tả, phiếu đánh giá, hình vẽ, bản đồ phân bố, chụp ảnh, ấn phẩm thông tin, catalog hoặc xây dựng cơ sở dữ liệu tin học.

5. Trao đổi thông tin tư liệu và nguồn gen cần được tiến hành thường xuyên giữa các cơ quan tham gia trong hệ thống bảo tồn, lưu giữ đồng thời cung cấp các thông tin tư liệu về nguồn gen cho các cơ quan

khoa học, sản xuất khi có nhu cầu. Trường hợp cần thiết có thể trao đổi với nước ngoài nhưng phải được các cơ quan có thẩm quyền chấp nhận.

III. Đối tượng cần được đưa vào bảo tồn, lưu giữ

1. Ưu tiên các nguồn gen quý, hiếm đặc thù của Việt Nam và đang có nguy cơ bị mất.

2. Các nguồn gen đã được đánh giá các chỉ tiêu sinh học

3. Các nguồn gen cần cho công tác nghiên cứu, lai tạo giống và phục vụ đào tạo.

4. Các nguồn gen được nhập từ nước ngoài đã được ổn định và thuần hoá ở Việt Nam, có ý nghĩa quan trọng trong sản xuất.

IV. Tổ chức thực hiện

1. Hoạt động quản lý về bảo tồn, lưu giữ nguồn gen được tiến hành trên phạm vi cả nước. Hệ thống các cơ quan tham gia bảo tồn, lưu giữ nguồn gen của các Bộ, ngành, địa phương được liên kết thành một mạng lưới các cơ quan bảo tồn, lưu giữ nguồn gen và đặt dưới sự quản lý thống nhất của Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường.

2. Hoạt động quản lý và điều hành mạng lưới cơ quan bảo tồn, lưu giữ nguồn gen bao gồm các nội dung sau:

- Hướng dẫn nghiệp vụ, xây dựng kế hoạch và tổ chức xét duyệt các Đề án bảo tồn, lưu giữ nguồn gen hàng năm để trình Lãnh đạo Bộ, ngành, địa phương và Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường xét duyệt.

- Tổ chức cho các cơ quan tham gia trong hệ thống đăng ký chủng loại gen đang được bảo tồn, lưu giữ tại các cơ quan đó theo Đề án chung đã được duyệt và Đề án trong năm về các chỉ tiêu số lượng, chất lượng cụ thể.

- Xây dựng sổ kiểm tra hàng năm về kế hoạch bảo tồn, lưu giữ nguồn gen để hướng dẫn các Bộ, Ngành, địa phương làm kế hoạch.

- Hàng năm, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường hướng dẫn kế hoạch khoa học, công nghệ và môi trường trong đó có kế hoạch về bảo tồn, lưu giữ nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật. Trên cơ sở đó, các Bộ, ngành, địa phương hướng dẫn và tổng hợp nhu cầu bảo tồn, lưu giữ nguồn gen của các cơ quan thực hiện gửi Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường cùng với toàn bộ kế hoạch khoa học, công nghệ và môi trường của năm sau. Kế hoạch bảo tồn, lưu giữ nguồn gen phải được thảo luận trong Hội nghị thảo luận kế hoạch năm của Bộ, ngành, địa phương và

được tổng hợp trình Lãnh đạo Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường phê duyệt cùng các nội dung khác của kế hoạch khoa học, công nghệ và môi trường.

- Kiểm tra, đôn đốc các mặt hoạt động các cơ quan tham gia hệ thống bảo tồn, lưu giữ. Trong trường hợp cần thiết, khi các cơ quan không chấp hành các điều khoản trong quy định này hoặc không đủ khả năng đảm đương nhiệm vụ thì có thể đề nghị Lãnh đạo Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường đình chỉ hoặc chuyển giao nhiệm vụ cho cơ quan khác.

3. Sở Khoa học, Công nghệ và Môi trường các Tỉnh, Thành phố có nhu cầu bảo tồn, lưu giữ nguồn gen đặc hữu của địa phương mình sẽ là cơ quan thực hiện nhiệm vụ:

- Giúp Ủy ban nhân dân các Tỉnh, Thành phố xây dựng kế hoạch, đưa vào kế hoạch khoa học, công nghệ và môi trường của địa phương và quản lý toàn diện công tác bảo tồn, lưu giữ nguồn gen thuộc phạm vi địa phương sau khi kế hoạch được phê duyệt.

- Phối hợp với đơn vị chủ trì thuộc Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường để thống nhất công tác quản lý về bảo tồn, lưu giữ nguồn gen theo ngành và lãnh thổ.

4. Nhiệm vụ của các cơ quan tham gia mạng lưới bảo tồn, lưu giữ nguồn gen:

- Quản lý và tổ chức thực hiện các nội dung quy định tại phần II của Quy chế này về toàn bộ số lượng và chất lượng nguồn gen đã được duyệt trong Đề án (kể cả nguồn gen mà cơ quan phối hợp bảo tồn, lưu giữ)

5. Các Bộ, ngành, địa phương

- Xây dựng Đề án tổng thể bảo tồn, lưu giữ nguồn gen thuộc lĩnh vực do cơ quan đảm nhiệm.

- Các Bộ, ngành chủ quản, Ủy ban nhân dân Tỉnh, Thành phố có trách nhiệm đăng ký với Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường về số lượng cụ thể các chủng loại nguồn gen đang được giữ tại các đơn vị theo chỉ tiêu kỹ thuật quy định cho từng chủng loại.

- Hàng năm lập kế hoạch và báo cáo cụ thể về tình hình quản lý nguồn gen thuộc đơn vị đang bảo tồn, lưu giữ gửi cho Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường.

- Báo cáo định kỳ theo yêu cầu của các cơ quan quản lý

6. Các tổ chức khoa học, công nghệ, cơ sở sản xuất kinh doanh, cá nhân ... thuộc các Bộ, ngành, địa phương có điều kiện cơ sở vật chất, khoa học kỹ thuật có thể đảm nhận được nhiệm vụ bảo tồn, lưu giữ nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật trong lĩnh vực chuyên môn hẹp của Bộ, ngành, địa phương mình nhưng phải được sự chấp thuận và phải chịu sự quản lý, chỉ đạo về chuyên môn của cơ quan chủ trì.

V. Nguồn tài chính

- Hàng năm các Bộ, ngành, địa phương lập kế hoạch tài chính cho công tác bảo tồn, lưu giữ nguồn gen từ Ngân sách khoa học, công nghệ và môi trường. Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường sẽ xem xét và giao chỉ tiêu hàng năm cho các Đề án bảo tồn, lưu giữ nguồn gen thuộc các Bộ, ngành, địa phương thành một hạng mục của kế hoạch khoa học, công nghệ và môi trường.

- Các Bộ, ngành, địa phương cần tạo điều kiện để thu hút các nguồn vốn khác phục vụ công tác bảo tồn, lưu giữ nguồn gen.

- Tranh thủ các nguồn tài chính của các tổ chức Quốc tế để đào tạo cán bộ, trao đổi chuyên gia, hội thảo quốc tế, hợp tác với các tổ chức Quốc tế, với các nước trong khu vực và Quốc tế cùng điều tra, thu thập, trao đổi nguồn gen và để bổ sung trang thiết bị, tiến hành điều tra, bảo tồn, lưu giữ, tư liệu hoá và trao đổi các thông tin tư liệu.

VI. Điều khoản thi hành

1. Vụ trưởng Vụ Quản lý Công nghệ Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường chịu trách nhiệm theo dõi, kiểm tra, định kỳ báo cáo Bộ trưởng Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường về việc thực hiện Quy chế này.

2. Bộ trưởng các Bộ, Thủ trưởng cơ quan ngang Bộ, Thủ trưởng cơ quan thuộc Chính phủ, Chủ tịch Ủy ban nhân dân Tỉnh, Thành phố trên cơ sở Quy chế này chỉ định cơ quan chủ trì và ban hành Quy chế quản lý về bảo tồn, lưu giữ nguồn gen thực vật, động vật và vi sinh vật của cơ quan mình.

Câu hỏi ôn tập chương 6

1. Thế nào là đa dạng di truyền? Nguyên nhân làm mất đa dạng di truyền trong điều kiện hiện nay?
2. Tại sao phải bảo tồn đa dạng sinh học? Mục đích bảo tồn?
3. Hãy cho biết các hoạt động khoa học trong bảo tồn nguồn gen vật nuôi?

MỤC LỤC

TRANG

Bài mở đầu	1
Chương 1. Cơ sở di truyền các tính trạng ở động vật	7
1. Di truyền các tính trạng Mendel	7
2. Sự tương tác gen làm sai lệch tỷ lệ phân ly Mendel	15
3. Ứng dụng định luật Mendel trong nhân giống động vật	19
4. Di truyền các tính trạng đa alen ở động vật	20
5. Di truyền các tính trạng số lượng	26
Chương 2 Di truyền tế bào	32
1. Cấu trúc cơ sở nhiễm sắc thể	32
2. Đặc thù trong hoạt động của nhiễm sắc thể	37
3. Nghiên cứu hình thái nhiễm sắc thể động vật	43
4. Morgan và thuyết di truyền nhiễm sắc thể	43
5. Đột biến nhiễm sắc thể	50
6. Di truyền học giới tính	57
7. Bản đồ gen động vật	68
8. Công nghệ tế bào động vật	70
Chương 3. Di truyền phân tử và kỹ thuật di truyền ứng dụng trong nhân giống động vật	81
1. DNA và vai trò của nó trong di truyền	82
2. Thành phần hóa học và cấu trúc phân tử DNA	85
3. Sao chép DNA	89
4. RNA và sự phiên mã (sinh tổng hợp RNA)	93
5. Mã di truyền và dịch mã (sinh tổng hợp protein)	99
6. Đột biến gen	113
7. Di truyền học Hemoglobin và công tác giống gia súc	118
8. Di truyền học miễn kháng	119
9. Kỹ thuật di truyền	129
10. Kỹ thuật gen trong chăn nuôi	141
Chương 4. Di truyền học quần thể	150
1. Khái niệm về quần thể	150
2. Di truyền trong quần thể	152
3. Các nhân tố ảnh hưởng đến cân bằng di truyền trong quần thể	160
4. Một số tham số di truyền ứng dụng trong công tác giống gia súc	166
Chương 5. Giao phối cận huyết và ưu thế lai	173
1. Giao phối cận huyết	173
2. Ưu thế lai	176

	216
Chương 6 Đa dạng di truyền và bảo vệ nguồn gen quý hiếm ở động vật	183
1. Biến dị di truyền ở động vật	184
2. Bảo tồn nguồn gen vật nuôi	185
3. Sự đa dạng sinh học ở vật nuôi	188
4. Các hoạt động khoa học trong lĩnh vực bảo tồn quỹ gen vật nuôi	191
5. Thực trạng bảo vệ nguồn gen vật nuôi ở Việt Nam	195
Một số thuật ngữ di truyền học	210
Tài liệu tham khảo	214

LỜI GIỚI THIỆU

Trong nhiều thập kỷ qua, di truyền học đã phát triển nhanh chóng, có điểm nhảy vọt và đã đạt được nhiều thành tựu mới về lý thuyết cũng như thực tiễn. Các nhà khoa học đã đi sâu nghiên cứu các lĩnh vực cơ bản của hiện tượng di truyền trong sinh giới: từ vi rus, vi khuẩn đến thực vật, động vật và con người, mở ra những hướng ứng dụng mới có hiệu quả, đặc biệt hấp dẫn trong công nghệ sinh học hiện đại như công nghệ tế bào, công nghệ gen, công nghệ cải tiến và nâng cao chất lượng của sản phẩm vật nuôi...

Trong lĩnh vực chăn nuôi, di truyền học là cơ sở khoa học của chọn và nhân giống. Các thành tựu về di truyền học được ứng dụng sớm, nhanh và nhiều hơn cả là trong lĩnh vực chọn giống. Kiến thức di truyền học là cơ sở để xây dựng các phương pháp lai tạo và cải thiện giống, phương pháp chọn lọc và tạo vật liệu ban đầu...

Giáo trình nhằm trang bị cho sinh viên những kiến thức cơ bản và hiện đại về di truyền nhiễm sắc thể, di truyền phân tử, di truyền quần thể, các kiến thức về suy hóa cận huyết và ưu thế lai đồng thời còn giúp sinh viên hiểu được đa dạng di truyền trong sinh giới và hiện trạng đa dạng di truyền ở Việt nam. Những kiến thức trên, sinh viên có thể vận dụng vào thực tiễn chọn giống và nhân giống động vật, gìn giữ và bảo vệ tài nguyên thiên nhiên, sinh học, vật nuôi ở nước ta trước mắt và lâu dài. Giáo trình cũng giới thiệu những thành tựu mới và hiện đại trong lĩnh vực lai tế bào soma, nhân bản vô tính động vật, cấy truyền phôi, cấy truyền hợp tử, kỹ thuật di truyền nhằm tạo tiềm lực cho sinh viên tiếp cận và làm chủ những kỹ thuật mới trong di truyền và chọn giống động vật. Chính vì vậy, giáo trình không chỉ là tài liệu học tập cho sinh viên Khoa Chăn nuôi-Thú y của Trường Đại học Nông lâm mà còn là tài liệu học tập và nghiên cứu cho cao học và nghiên cứu sinh chuyên ngành di truyền và giống động vật. Giáo trình cũng là tài liệu tham khảo cho sinh viên và cán bộ của các trường khác có học môn học này.

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS Đặng Hữu Lanh đã đọc và đóng góp ý kiến cho cuốn giáo trình này, cảm ơn Dự án giáo dục đại học-Đại học Huế đã tài trợ kinh phí. Tuy nhiên, tác giả đã có nhiều cố gắng, song cũng không thể tránh khỏi những khiếm khuyết, chúng tôi rất mong nhận được nhiều ý kiến đóng góp của đồng nghiệp và các độc giả để giáo trình được hoàn thiện hơn và lần tái bản sau có chất lượng cao hơn.

Xin chân thành cảm ơn.

Tác giả chủ biên
PGS.TS NGUYỄN MINH HOÀN

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cunningham. E.P. 1969. Animal Breeding Theory. Institute of Animal Breeding, Oslo,
- 2.. Hồ Huỳnh Thùy Dương. 2003. Sinh học phân tử. Nhà xuất bản giáo dục.
- 3 Hammond K. Graser H.U, McDonald C.A. Animal Breeding. 1992. The Modern Approach. Published by Post Graduate Foundation in Veterinary Science University of Sydney.
4. Phạm Thành Hồ. 1999. Di truyền học. Nhà xuất bản giáo dục.
5. Nguyễn Minh Hoàn, Nguyễn Kim Đường, Phạm Khánh Từ. 2000. Di truyền động vật. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
6. Kinghorn.B. 1995. Quantitative Genetics Manual. University of New England.
7. Đặng Hữu Lanh, Trần Đình Miên, Trần Đình Trọng. 1999. Cơ sở di truyền chọn giống động vật. Nhà xuất bản giáo dục.
8. Lê Đình Lương. Cơ sở di truyền học. 1996. Nhà xuất bản giáo dục.
9. Klug W.S, Cunming M.R.1986. Concepts of Genetics. Scott, Foresmen and Company.
10. Phan Cự Nhân. 2000. Di truyền động vật và ứng dụng. Nhà xuất bản giáo dục, Hà Nội.
11. Nguyễn Hải Quân, Đặng Vũ Bình, Đinh Văn Chính, Ngô Đoàn Trinh. 1999. Giáo trình chọn giống và nhân giống gia súc. Trường Đại học Nông nghiệp I-Hà nội.
12. Lê Đình Trung, Đặng Hữu Lanh. 2001. Di truyền học. Nhà xuất bản giáo dục.
13. Viện chăn nuôi. 1994. Kết quả nghiên cứu bảo tồn nguồn gen vật nuôi ở Việt nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

GIÁO TRÌNH CƠ SỞ DI TRUYỀN CHỌN GIỐNG ĐỘNG VẬT

1. Thông tin về tác giả

Họ và tên : PGS.TS. Nguyễn Minh Hoàn

Sinh năm 1957

Cơ quan công tác: Khoa Chăn nuôi-Thú y, Trường Đại học Nông lâm - Đại học Huế.

Địa chỉ email: hoan1956@gmail.com

2. Phạm vi và đối tượng sử dụng

- Giáo trình có thể dùng tham khảo cho các ngành: Chăn nuôi-Thú y, Thú y, Nuôi trồng thủy sản.
- Các từ khóa: Đậu Hà lan (*pisum sativum*), gen, locus, alen (*allele*), thể hệ (*filial*), ruồi dấm (*Drosophila melanogaster*), nhiễm sắc thể (*chorosome*), phân bào (*mitosis*), liên kết gen (*gene linke*), tái tổ hợp (*recombination*), DNA (*dezoxyribonucleic acid*), RNA (*ribonucleic acid*), sao chép DNA, phiên mã, dịch mã, quần thể (*population*), giao phối cận huyết (*inbreeding*), ưu thế lai (*heterosis*).
- Yêu cầu kiến thức trước khi học môn này: Sinh viên phải học qua các môn Sinh học đại cương, Hóa sinh học.
- Giáo trình đã nghiệm thu nhưng chưa xuất bản.

3. Ảnh kỹ thuật số tác giả



GIÁO TRÌNH CHỌN GIỐNG VÀ NHÂN GIỐNG VẬT NUÔI

1. Thông tin về tác giả

1. Họ và tên : PGS.TS. Nguyễn Đức Hưng

Sinh năm 1952

Cơ quan công tác: Cơ quan Đại học Huế.

2. PGS.TS Nguyễn Minh Hoàn

Cơ quan công tác: Khoa chăn nuôi-Thú y, Trường Đại học Nông lâm- Đại học Huế

Địa chỉ email: hoan1956@gmail.com

3. TS. Lê Đình Phùng

Cơ quan công tác: Khoa chăn nuôi-Thú y, Trường Đại học Nông lâm- Đại học Huế

Địa chỉ email: phung.ledinh@gmail.com

2. Phạm vi và đối tượng sử dụng

- Giáo trình có thể dùng tham khảo cho các ngành: Chăn nuôi-Thú y, Thú y,

- Các từ khóa: Nguồn gốc, thuần hóa, thích nghi, giống vật nuôi, sinh trưởng, phát dục, sức sản xuất, ngoại hình, thể chất, hệ phả, hệ số di truyền, tương quan di truyền, hệ số lặp lại, giao phối cận huyết, ưu thế lai, chọn lọc, nhân giống.

- Yêu cầu kiến thức trước khi học môn này: Sinh viên phải học qua các môn: Toán xác suất thống kê, Sinh học đại cương, Di truyền.

- Giáo trình đã nghiệm thu và đã xuất bản.

3. Ảnh kỹ thuật số tác giả