



SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH
TRUNG TÂM THÔNG TIN VÀ THỐNG KÊ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

CÔNG NGHỆ SINH HỌC SẢN XUẤT GIỐNG CÂY LƯƠNG THỰC

XU HƯỚNG NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ TRÊN THẾ GIỚI
VÀ MỘT SỐ ỨNG DỤNG TẠI VIỆT NAM



- Tháng 12/2024 -

MỤC LỤC

PHẦN MỞ ĐẦU

PHẦN 1 - TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU, ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC PHỤC VỤ CÔNG TÁC TẠO GIỐNG CÂY LƯƠNG THỰC TRÊN THẾ GIỚI..... 1

- 1.1 Tình hình đăng ký bảo hộ sáng chế công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực trên thế giới theo thời gian 1
- 1.2 Bảo hộ sáng chế CNSH về giống cây lương thực tại một số quốc gia và vùng lãnh thổ..... 2
- 1.3 Các hướng nghiên cứu công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực 3
 - 1.3.1 Theo hướng nghiên cứu - Kỹ thuật nuôi cấy mô 4
 - 1.3.2 Theo hướng nghiên cứu - Kỹ thuật di truyền..... 6
 - 1.3.3 Theo hướng nghiên cứu - Chỉ thị phân tử..... 8
 - 1.3.4 Ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo giống cây lương thực..... 12
- 1.4 Các đơn vị sở hữu nhiều sáng chế về CNSH phục vụ công tác tạo giống cây lương thực 16
 - 1.4.1 Các đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế 16
 - 1.4.2 Đăng ký bảo hộ của các đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế 17

PHẦN 2 - CÁC SÁNG CHẾ CNSH PHỤC VỤ CÔNG TÁC TẠO GIỐNG CÂY LƯƠNG THỰC TẠI VIỆT NAM..... 18

- 2.1 Các sáng chế được bảo hộ tại Việt Nam 18
 - 2.1.1 Về một số đơn đăng ký sáng chế ứng dụng kỹ thuật di truyền trong chọn tạo giống lương thực 18
 - 2.1.2 Về một số đơn đăng ký sáng chế ứng dụng kỹ thuật chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lương thực..... 22
 - 2.1.3 Về một số đơn đăng ký sáng chế ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô trong chọn tạo giống lương thực 23
- 2.2 Một số công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực..... 23
 - 2.2.1 Ứng dụng công nghệ microRNA tạo cây trồng kháng tuyến trùng ký sinh thực vật... 23
 - 2.2.2 Ứng dụng công nghệ sinh học cho chọn tạo giống cây trồng thông qua khai thác nguồn dữ liệu lớn (Big data)..... 28
 - 2.2.3 Chương trình chọn tạo giống khoai tây ứng dụng công nghệ sinh học tại vùng Tây Nguyên, Việt Nam 32

PHẦN 3 - KẾT LUẬN..... 34

- 3.1 Về xu hướng phát triển công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực..... 34
- 3.2 Tình hình nghiên cứu, ứng dụng CNSH trong chọn tạo giống cây lương thực tại Việt Nam.... 35
- 3.3 Một số nhận xét, khuyến nghị..... 38

PHẦN PHỤ LỤC 39

- Phụ lục 1 40
- Phụ lục 2 42
- Phụ lục 3 44

PHẦN MỞ ĐẦU

Công nghệ sinh học là ngành nghiên cứu và vận dụng sinh vật sống kết hợp với quy trình và thiết bị kỹ thuật để tạo ra sản phẩm và sản xuất ở quy mô công nghiệp với các sản phẩm sinh học phục vụ cho lợi ích của con người, đồng thời phát triển kinh tế - xã hội và bảo vệ môi trường

Công nghệ sinh học được ứng dụng đa dạng trong nông nghiệp như sản xuất chế phẩm sinh học, thuốc bảo vệ thực vật, sản xuất phân bón hữu cơ, sản xuất giống cây nông nghiệp sạch bệnh, sản xuất giống hàng loạt... Trước đây, việc chọn tạo, cải tiến giống cây trồng dựa trên việc tạo và khai thác biến dị di truyền, thì ngày nay, hầu hết các nghiên cứu chọn tạo giống mới đều sử dụng các công cụ công nghệ sinh học như: sinh học phân tử, kỹ thuật di truyền, nuôi cấy mô, chỉ thị phân tử, lập bản đồ gen, ... Hơn thế, việc "tạo biến dị di truyền theo mong muốn" còn cho phép biến đổi vật chất di truyền một cách chính xác để tạo được các quần thể đột biến có chi phí thấp, nhanh chóng, độ chính xác cao, đồng thời cho phép vượt qua các rào cản mà các công cụ truyền thống chưa làm được.

Cây lương thực là nguồn cung cấp năng tinh bột và chất dinh dưỡng chủ yếu cho con người, là nguồn đảm bảo an ninh kinh tế quốc gia. Với thực trạng biến đổi khí hậu, đô thị hóa mạnh mẽ, diện tích đất nông nghiệp bị thu hẹp, việc nghiên cứu sản xuất giống cây lương thực có khả năng chống chịu sâu bệnh, khí hậu khắc nghiệt, nâng cao năng suất cây trồng là vấn đề được quan tâm. Nghị quyết số 36-NQ/TW cũng nêu rõ cần tập trung phát triển, ứng dụng công nghệ sinh học trong sản xuất cũng như phát triển công nghệ sinh học trở thành ngành kinh tế- kỹ thuật quan trọng trong nông nghiệp.

Công nghệ sinh học có phạm vi ứng dụng lớn nên thu hút mạnh sự quan tâm của các cơ quan quản lý, nhà nghiên cứu và doanh nghiệp. Để thông tin thêm về các xu hướng phát triển công nghệ sinh học để tạo giống cây lương thực trên thế giới và tình hình nghiên cứu, phát triển công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống lương thực trong nước cho các cơ quan quản lý, nhà nghiên cứu và doanh nghiệp, Trung tâm Thông tin và Thống kê KH&CN TP.HCM đã tổ chức hội thảo "*Công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực*" và biên soạn tài liệu tổng quan "*Công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực trên thế giới và một số ứng dụng tại Việt Nam*". Tài liệu này gồm 3 phần:

- **Phần 1. Tình hình nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực trên thế giới:** sẽ phân tích xu hướng nghiên cứu Công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực trên cơ sở số liệu sáng chế quốc tế. Cung cấp thông tin về tình hình công bố, bảo hộ sáng chế theo thời gian, quốc gia bảo hộ; các hướng nghiên cứu quy trình, công nghệ, cũng như một số ứng dụng công nghệ sinh học trong thực tiễn.

- **Phần 2. Một số công nghệ, ứng dụng công nghệ sinh học tạo giống cây lương thực tại Việt Nam:** sẽ điểm qua tình hình bảo hộ sáng chế liên quan tại Việt Nam và khái quát một số công nghệ, nghiên cứu của các chuyên gia trong nước (Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM; Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long; Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa) sẵn sàng chuyển giao vào thực tiễn ngành nông nghiệp, đã được giới thiệu tại Hội thảo “*Công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực*”, tổ chức ngày 11/12/2024.

- **Phần 3: Kết luận:** khái quát lại xu hướng công nghệ và ứng dụng công nghệ sinh học để tạo giống cây lương thực trên thế giới, cũng như một số nét về kết quả nghiên cứu, ứng dụng công nghệ này tại Việt Nam.

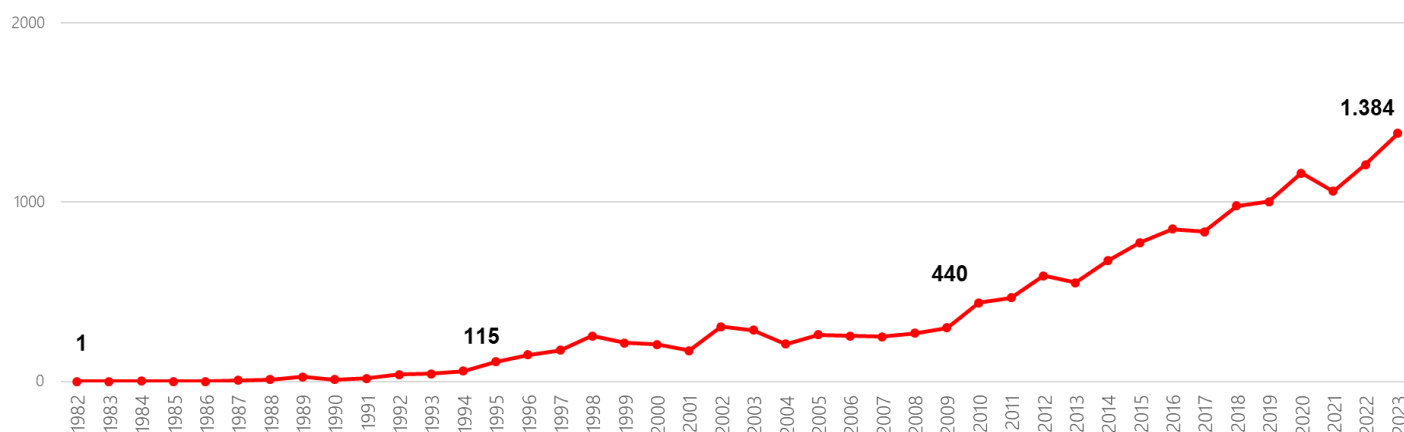
Ban Tổ chức mong rằng, tài liệu này sẽ cung cấp một bức tranh khái quát về xu hướng nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh học tạo giống cây lương thực trên thế giới và tại Việt Nam cho các cơ quan quản lý nhà nước, các nhà nghiên cứu, nhà đầu tư và cả các doanh nghiệp để có những cân nhắc các hướng công nghệ sinh học trong nên đẩy mạnh đầu tư, nghiên cứu để vừa mang lại lợi ích thiết thực, vừa phù hợp với xu hướng phát triển chung trong tương lai. Trân trọng.

Ban Tổ chức

PHẦN 1 - TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU, ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC PHỤC VỤ CÔNG TÁC TẠO GIỐNG CÂY LƯƠNG THỰC TRÊN THẾ GIỚI

1.1 Tình hình đăng ký bảo hộ sáng chế công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực trên thế giới theo thời gian

Theo số liệu từ cơ sở dữ liệu sáng chế quốc tế WIPS Global, tính đến tháng 07/2024, có 16.006 đơn đăng ký sáng chế ứng dụng công nghệ sinh học (CNSH) phục vụ công tác tạo giống cây lương thực đã đăng ký bảo hộ trên thế giới. Sáng chế đầu tiên liên quan đến biến đổi gen trên ngũ cốc được các tác giả Robert L. Erwin và Ernest T. Hubbard đăng ký tại Mỹ ngày 30/9/1982, được công bố ngày 14/4/1983. Sáng chế đề cập đến các vectơ biến đổi có thể sử dụng để biến đổi gen tế bào thực vật, mô thực vật hoặc cơ quan thực vật. Các vectơ biến đổi này là các phân tử DNA sợi kép bao gồm một gen ngoại lai với tế bào thực vật, mô thực vật hoặc cơ quan thực vật và có liên quan đến một đặc điểm có thể lựa chọn hoặc có thể xác định được khi có trong đó ít nhất một trình tự DNA về cơ bản giống hệt với trình tự DNA có trong tế bào thực vật, mô thực vật hoặc cơ quan thực vật và có khả năng tái tổ hợp hoặc tương đồng với trình tự DNA thực vật nói trên khi vectơ biến đổi được đưa vào thực vật tế bào, mô thực vật hoặc cơ quan thực vật. Các phân tử DNA sợi kép bao gồm một gen liên quan đến biểu hiện của một đặc tính nông học mong muốn hoặc tạo ra một sản phẩm mong muốn trong tế bào thực vật, mô thực vật, cơ quan thực vật hoặc trong thực vật có nguồn gốc từ đó, có thể sử dụng để tạo ra thực vật có đặc tính mong muốn hoặc để sản xuất các sản phẩm có giá trị thương mại. Những vectơ biến nạp này đặc biệt hữu ích cho việc biến đổi cấu trúc di truyền của ngũ cốc, bao gồm lúa mạch, lúa mì, gạo và ngô.



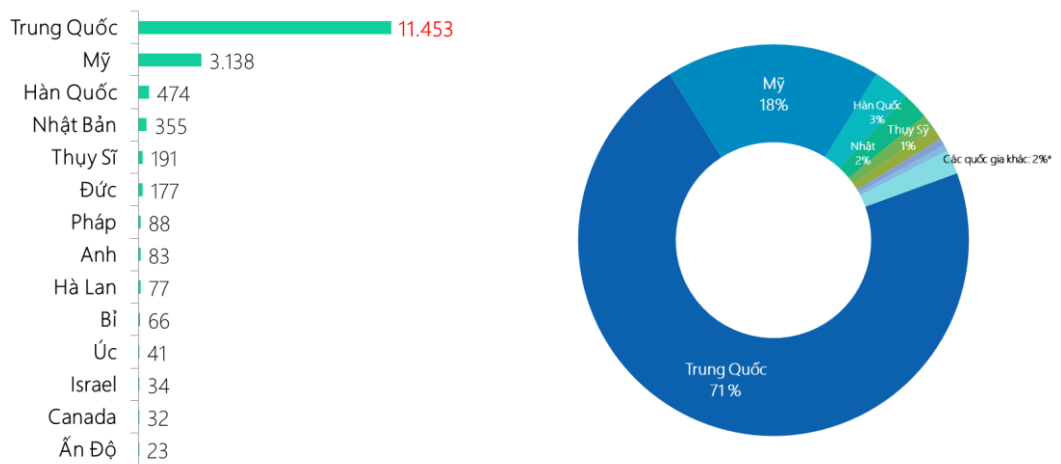
Hình 1.1. Tình hình đăng ký bảo hộ sáng chế công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực theo thời gian

Theo thời gian, sự phát triển của công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực có thể chia thành 3 giai đoạn:

- Giai đoạn 1982-1994: có số lượng công bố khá ít (dưới 100 đơn /năm). Đây là thời kỳ đầu ứng dụng CNSH vào chọn tạo giống cây lương thực.
- Giai đoạn 1995-2009: các nghiên cứu CNSH có tốc độ tăng trưởng đạt mức 300 đơn đăng ký sáng chế vào năm 2009.
- Từ năm 2010-2023: sáng chế về CNSH phục vụ giống cây lương thực có xu hướng tăng trưởng nhanh. Năm 2019 số lượng sáng chế đăng ký lần đầu cán mức 1.000 đơn và đến năm 2023 đạt hơn 1.300 đơn đăng ký sáng chế.

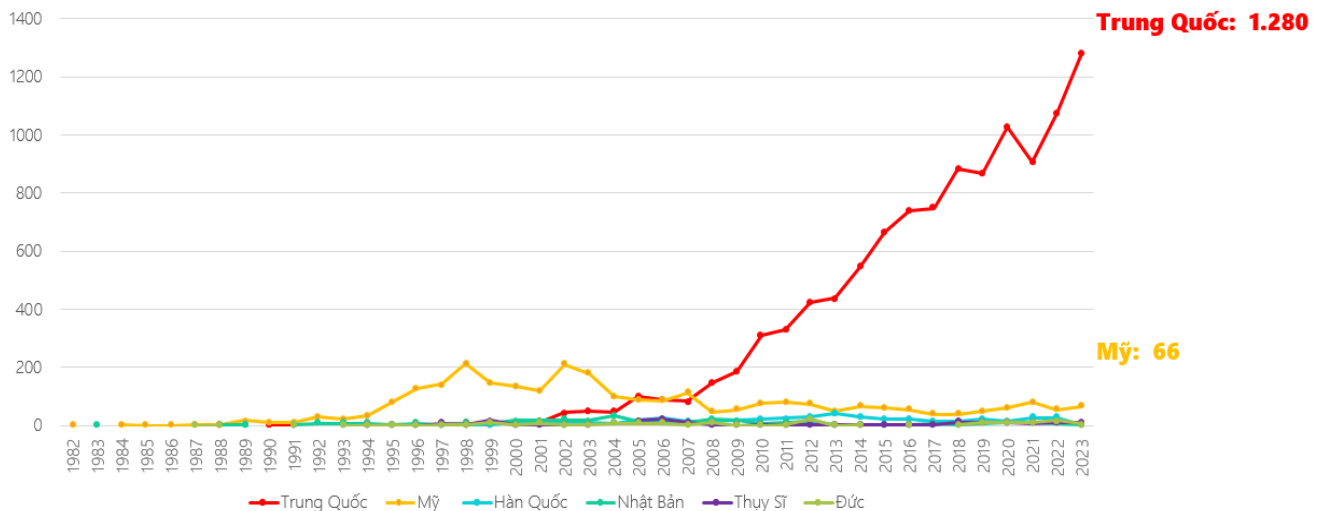
1.2 Bảo hộ sáng chế CNSH về giống cây lương thực tại một số quốc gia và vùng lãnh thổ

Sáng chế về CNSH phục vụ công tác tạo giống cây lương thực đã được các nhà nghiên cứu đăng ký bảo hộ tại nhiều quốc gia trên thế giới. Trong đó, ba quốc gia có số lượng sáng chế đăng ký bảo hộ nhiều nhất là Trung Quốc, Mỹ và Hàn Quốc. Hiện Trung Quốc đang là quốc gia bảo hộ sáng chế CNSH phục vụ công tác tạo giống cây lương thực nhiều nhất trên thế giới (chiếm đến 71%) với hơn 11.000 đơn đăng ký sáng chế. Mỹ và Hàn Quốc lần lượt chiếm vị trí thứ 2 và 3, với số lượng đơn đăng ký bảo hộ sáng chế lần lượt là 3.138 đơn và 474 đơn, tương đương với 18% và 3% trong tổng số đơn đăng ký sáng chế được công bố bảo hộ trên thế giới.



Hình 1.2. Bảo hộ sáng chế về công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực tại một số quốc gia và vùng lãnh thổ

Theo số liệu sáng chế từ các quốc gia cho thấy, Mỹ có đơn đăng ký sáng chế đầu tiên trên thế giới từ năm 1982, đến năm 2007, Mỹ vẫn dẫn đầu với số lượng sáng chế được đăng ký. Tuy nhiên, từ năm 2008, Trung Quốc có bước nhảy vọt lên vị trí dẫn đầu cho đến nay, đạt 1.280 đơn đăng ký sáng chế năm 2023.



Hình 1.3. Bảo hộ sáng chế tại một số quốc gia dẫn đầu về số lượng sáng chế theo thời gian

1.3 Các hướng nghiên cứu công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực

Các sáng chế về CNSH phục vụ công tác tạo giống cây lương thực được nghiên cứu theo hướng về kỹ thuật (kỹ thuật nuôi cấy mô, kỹ thuật di truyền, chỉ thị phân tử) và theo hướng ứng dụng tạo các giống cây lương thực (lúa, lúa mì, đậu, khoai tây, cao lương, kê...) và theo mục đích chống chịu với thực trạng biến đổi khí hậu và bùng nổ dân số hiện nay (giống tăng năng suất, chống chịu sâu, bệnh, virus, chịu hạn, chịu stress...).

1.3.1 Theo hướng nghiên cứu - Kỹ thuật nuôi cấy mô

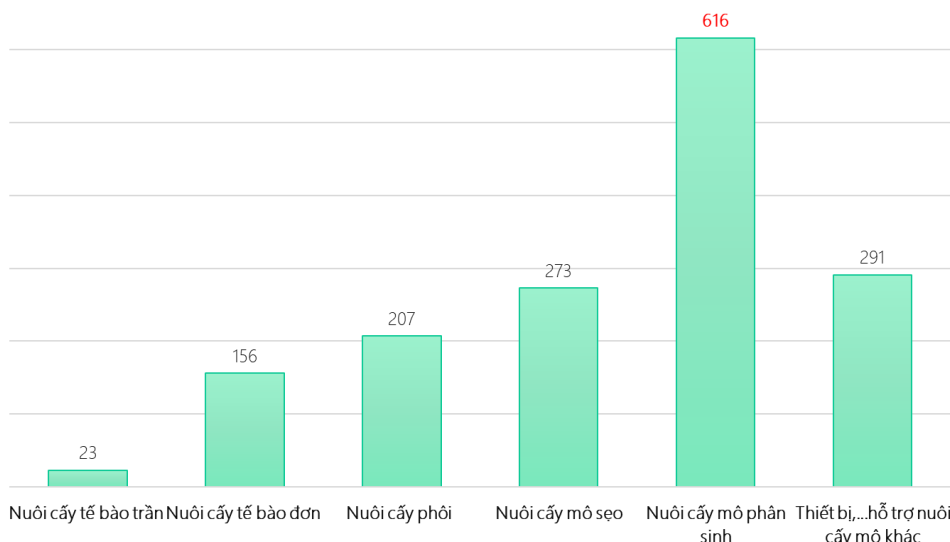
Nuôi cấy mô (NCM) là một phương pháp nghiên cứu sử dụng các mảnh mô từ động vật hoặc thực vật được chuyển đến môi trường nhân tạo mà chúng có thể tiếp tục tồn tại và hoạt động. Mô nuôi cấy có thể bao gồm một tế bào, một quần thể tế bào, hoặc toàn bộ hoặc một phần của một cơ quan. Nuôi cấy mô tế bào thực vật (Plant tissue culture) là tổng hợp những kỹ thuật được sử dụng để duy trì và nuôi cấy các tế bào, mô hoặc cơ quan thực vật (rễ, chồi,...) hoặc cơ thể thực vật hoàn chỉnh trong điều kiện vô trùng trên môi trường nuôi cấy giàu dinh dưỡng với những thành phần đã xác định hoặc chưa xác định.

Một số kỹ thuật nuôi cấy mô được nghiên cứu nhiều nhất là: nuôi cấy mô phân sinh, nuôi cấy mô sẹo, nuôi cấy phôi, nuôi cấy tế bào đơn, tế bào trần. Trong đó, nuôi cấy mô phân sinh được đăng ký bảo hộ sáng chế nhiều nhất, 616 sáng chế, tương đương 39%; xếp thứ 2 là nhóm thiết bị hỗ trợ nuôi cấy mô (thiết bị, dịch nuôi cấy, môi trường nuôi cấy) với 291 đơn đăng ký sáng chế (9%); xếp thứ ba là công nghệ nuôi cấy mô sẹo, 273 đơn đăng ký sáng chế (17%).

Sáng chế "*Phương pháp nuôi cấy cây giống khoai lang đã khử độc bằng ngọn thân*" (mã số CN101584301B) do Học viện Hà Nam (Trung Quốc) đăng ký bảo hộ ngày 5/6/2009 đã sử dụng kỹ thuật nuôi cấy mô đỉnh phân sinh để tiến hành nhân giống cây khoai lang. Phương pháp này bao gồm các bước: chọn hạt giống khoai tây đủ tiêu chuẩn để nuôi cây giống, cắt ngọn thân cây giống, lột lớp mô phân sinh đầu ngọn để nuôi cấy, nuôi cấy tạo cây giống sau khi mô phân sinh đầu ngọn thân phát triển và chuyển sang màu xanh, thực hiện nuôi chồi để lấy cây con trong ống nghiệm, phát hiện virus, lấy lá cây giống đã giải độc để kích thích nhân giống nhanh, thuần hóa và cấy ghép, thu được cây giống đầu ngọn của khoai lang giống. Sáng chế sử dụng công nghệ nhân giống nhanh bằng lá cây giống đã giải độc để thu được nhiều cây giống đã giải độc của một chủng trong thời gian ngắn nhằm giảm chi phí sản xuất, cải thiện hiệu quả tỷ lệ giải độc virus và tỷ lệ thiết lập đầu ngọn thân và nhanh chóng cung cấp cây giống không độc cho sản xuất khoai lang và lưu trữ nguyên liệu.

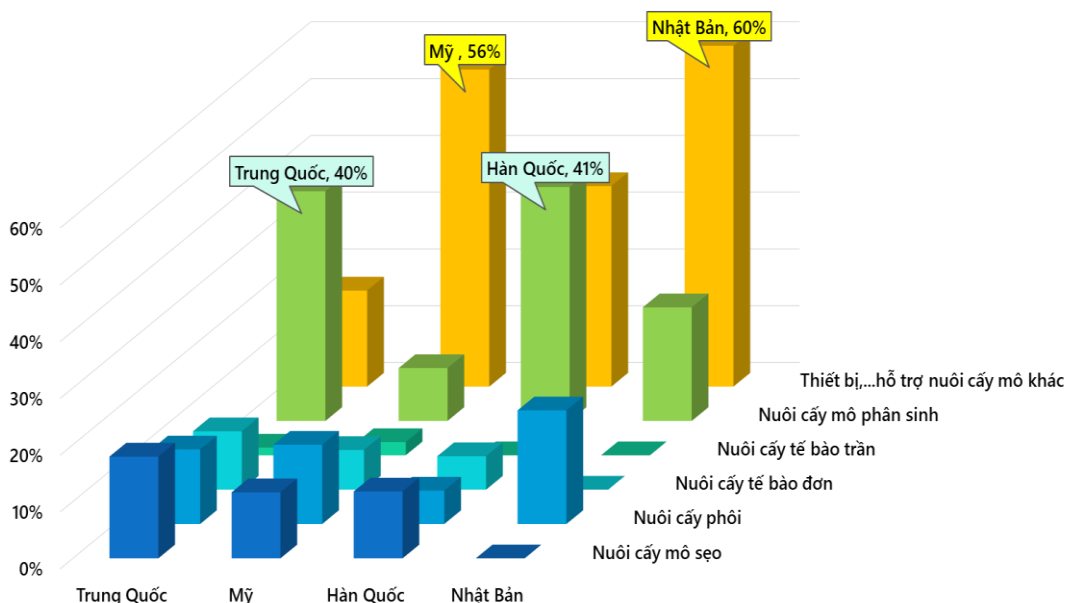
Tại Mỹ, Công ty Monsanto đã đăng ký bảo hộ sáng chế về "*Phương pháp và thiết bị phân lập cơ bản mô thực vật*" (mã số US10091957B2) ngày 28/9/2022, Sáng chế đề cập đến phương pháp và thiết bị để phân lập nhanh phôi thực vật một lá mầm thích hợp cho quá trình chuyển đổi hoặc nuôi cấy mô. Sáng chế cũng đề cập đến các thiết bị để phân lập nhiều phôi thực vật sử dụng làm mẫu cấy có thể chuyển đổi; môi trường thích hợp để phân lập phôi thực vật và các phương pháp để chuẩn bị chúng.

Nuôi cấy mô sẹo là một trong những kỹ thuật nuôi cấy mô quen thuộc và được sử dụng trên nhiều loại cây. Ngày 15/6/1988, Công ty FMC (Mỹ) đã đăng ký bảo hộ sáng chế “Quy trình tái sinh ngô từ nuôi cấy mô” (mã số USH000951H1) là một ví dụ ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô sẹo để tái tạo cây ngô (bắp).



Hình 1.4. Hướng nghiên cứu kỹ thuật nuôi cấy mô

Xem xét tình hình nghiên cứu về các kỹ thuật NCM tại từng quốc gia, tỷ lệ đơn đăng ký sáng chế liên quan đến các kỹ thuật NCM phân sinh tại Trung Quốc và Hàn Quốc chiếm tỷ lệ cao nhất, với hơn 40% tổng tỷ lệ các kỹ thuật NCM của các nước này. Ở Mỹ và Nhật, tỷ lệ đơn đăng ký sáng chế về thiết bị hỗ trợ nuôi cấy mô lại chiếm ưu thế so với các kỹ thuật NCM khác (tỷ lệ hơn 55%).



Hình 1.5. Tỷ lệ đăng ký bảo hộ theo từng quốc gia chủ đơn

1.3.2 Theo hướng nghiên cứu - Kỹ thuật di truyền

Theo Viện Nghiên cứu bộ gen người Quốc gia Mỹ, kỹ thuật di truyền - công nghệ biến đổi gen là một quá trình sử dụng các công nghệ trong phòng thí nghiệm để thay đổi cấu trúc DNA của một sinh vật. Quá trình này có thể bao gồm việc thay đổi một cặp bazơ đơn lẻ (AT hoặc CG), xóa một vùng DNA hoặc thêm một đoạn DNA mới. Ví dụ, kỹ thuật di truyền có thể bao gồm việc thêm một gen từ một loài vào một sinh vật từ một loài khác để tạo ra một đặc điểm mong muốn. Được sử dụng trong nghiên cứu và công nghiệp, kỹ thuật di truyền đã được áp dụng để sản xuất các liệu pháp điều trị ung thư, men bia, thực vật và vật nuôi biến đổi gen,...

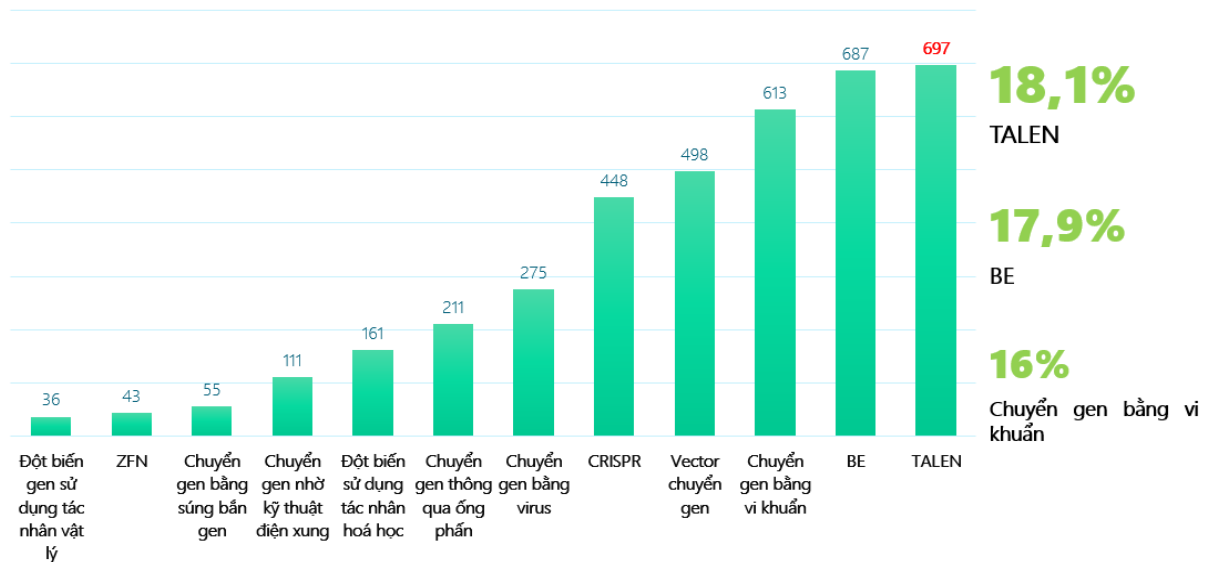
Trong hơn 8.400 đơn đăng ký sáng chế về kỹ thuật di truyền ứng dụng trong công tác tạo giống cây lương thực, công nghệ TALEN (công cụ chỉnh sửa gen) được đăng ký bảo hộ nhiều nhất, với 697 đơn đăng ký sáng chế (18,1%).

Năm 2010, TALEN là công nghệ chỉnh sửa gen để sử dụng đầu tiên châm ngòi cho cuộc cách mạng chỉnh sửa bộ gen đã được phát triển bởi Dan Voytas và Feng Zhang- các nhà nghiên cứu tại Đại học Minnesota. Các tác nhân giống chất hoạt hóa phiên mã (TALE) là các protein được tạo ra và sử dụng bởi vi khuẩn gây bệnh thực vật để kiểm soát các gen thực vật trong quá trình nhiễm trùng. Trong tự nhiên, TALE liên kết với các trình tự DNA thực vật và kích hoạt các gen. Sự liên kết được nhắm mục tiêu đến các trình tự DNA cụ thể thông qua các đoạn lặp lại axit amin của protein TALE nhận dạng các bazơ DNA cụ thể bằng một bộ quy tắc sinh hóa hoặc "mã". Các nhà nghiên cứu có thể sử dụng mã này để tùy chỉnh TALE và các hợp nhất protein TALE để liên kết với bất kỳ trình tự DNA mong muốn nào. TALEN là các tổ hợp protein bao gồm hai phần: một phần là TALE nhắm mục tiêu protein đến một trình tự DNA cụ thể và phần thứ hai là một nuclease (N) cắt DNA. Fok1 là một nuclease thường được sử dụng trong TALEN. Ứng dụng của công nghệ ở nhiều loài đã thu hút sự chú ý của các nhà khoa học trên toàn thế giới về đột biến gen mục tiêu. Những thành công đột phá quan trọng của chỉnh sửa bộ gen kể từ đó đã đạt được bằng cách sử dụng TALEN, trong số đó có việc thương mại hóa đầu tiên một loại cây trồng đã được chỉnh sửa. Ngày 26/11/2019, tập đoàn Syngenta của Thụy Sĩ đã đăng ký sáng chế "*Tạo gen câm lặng bằng chỉnh sửa gen*" (mã số US2022-0010322A1) sử dụng TALEN để chỉnh sửa gen là một ví dụ.

Xếp thứ nhì trong nhóm kỹ thuật di truyền là kỹ thuật BE (kỹ thuật chỉnh sửa gen) 17,9%. Kỹ thuật chuyển gen bằng vi khuẩn xếp thứ 3, với 613 đơn đăng ký sáng chế,

tương đương 16%. Ngoài ra, một số kỹ thuật di truyền khác như: vector chuyển gen, CRISPR,... cũng được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu và đăng ký bảo hộ.

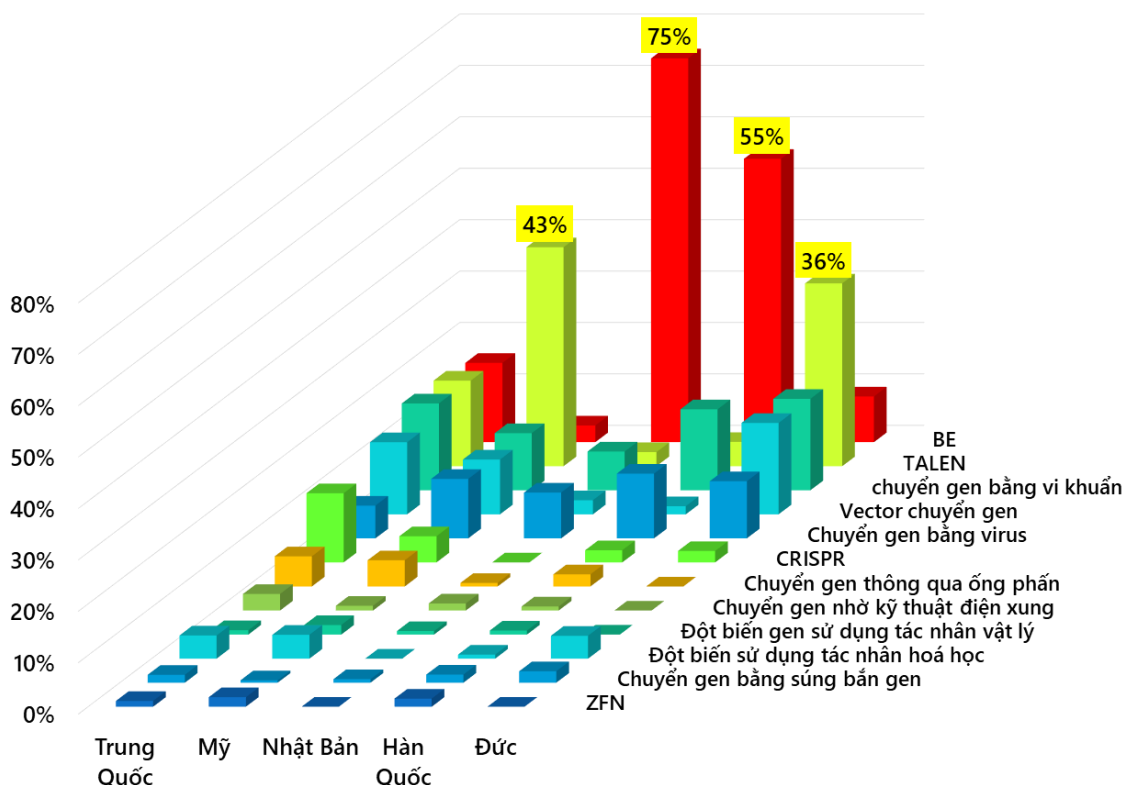
Bắt đầu từ năm 2012, CRISPR/Cas9 và nhiều kỹ thuật liên quan đã trở thành công cụ chỉnh sửa bộ gen thành công nhất thế giới. Ưu điểm chính của CRISPR/Cas9 so với công nghệ TALEN là việc sử dụng nó đơn giản hơn, do đó cho phép các phòng thí nghiệm trên toàn thế giới áp dụng chỉnh sửa bộ gen như một công nghệ thường quy. Hơn nữa, nhiều biến thể Cas9 và hệ thống CRISPR đã được thiết kế để chỉnh sửa bộ gen, chứng minh tính linh hoạt cực kỳ rộng rãi của danh mục CRISPR. Sáng chế "Phương pháp thu thập đột biến gen lúa đặc hiệu và ứng dụng của phương pháp này" (mã số CN104450745A) do đại học Bắc Kinh đăng ký bảo hộ ngày 12/9/2019 đề cập đến phương pháp thu thập đột biến gen lúa đặc hiệu, thông qua việc tối ưu hóa hệ thống CRISPR/Cas truyền thống, một vectơ biểu hiện gen CAS9 được tối ưu hóa, một vectơ biểu hiện sgRNA được tối ưu hóa và một vectơ biểu hiện nhị phân được tối ưu hóa của crRNA:tracrRNA được xây dựng; trình tự nhận dạng của các gen lúa đặc hiệu đã sàng lọc được sao chép vào các vectơ để xây dựng các vectơ chuyển đổi, để cuối cùng thu được các đột biến gen lúa đặc hiệu. Phương pháp này áp dụng hệ thống CRISPR/Cas vào lúa để tạo ra các đột biến gen đặc hiệu và có tỷ lệ đột biến cao và giá trị ứng dụng rộng rãi trong kỹ thuật gen thực vật



Hình 1.6. Một số kỹ thuật di truyền được ứng dụng trong tạo giống cây lương thực

Trong 5 quốc gia có nhiều đơn đăng ký bảo hộ về kỹ thuật di truyền (Trung Quốc, Mỹ, Nhật, Hàn Quốc, Đức), tỷ lệ sáng chế bảo hộ kỹ thuật BE tại Nhật và Hàn Quốc chiếm vị trí cao nhất; tại Đức và Mỹ tỷ lệ sáng chế bảo hộ về công nghệ TALEN chiếm

vị trí cao nhất; riêng tại Trung Quốc, có sự quan tâm tương đồng cao giữa các kỹ thuật di truyền có số lượng đơn đăng ký sáng chế nhiều nhất (BE, TALEN và kỹ thuật chuyển gen bằng vi khuẩn).



Hình 1.7. Bảo hộ về một số kỹ thuật di truyền thông dụng tại các quốc gia trên thế giới

1.3.3 Theo hướng nghiên cứu - Chỉ thị phân tử

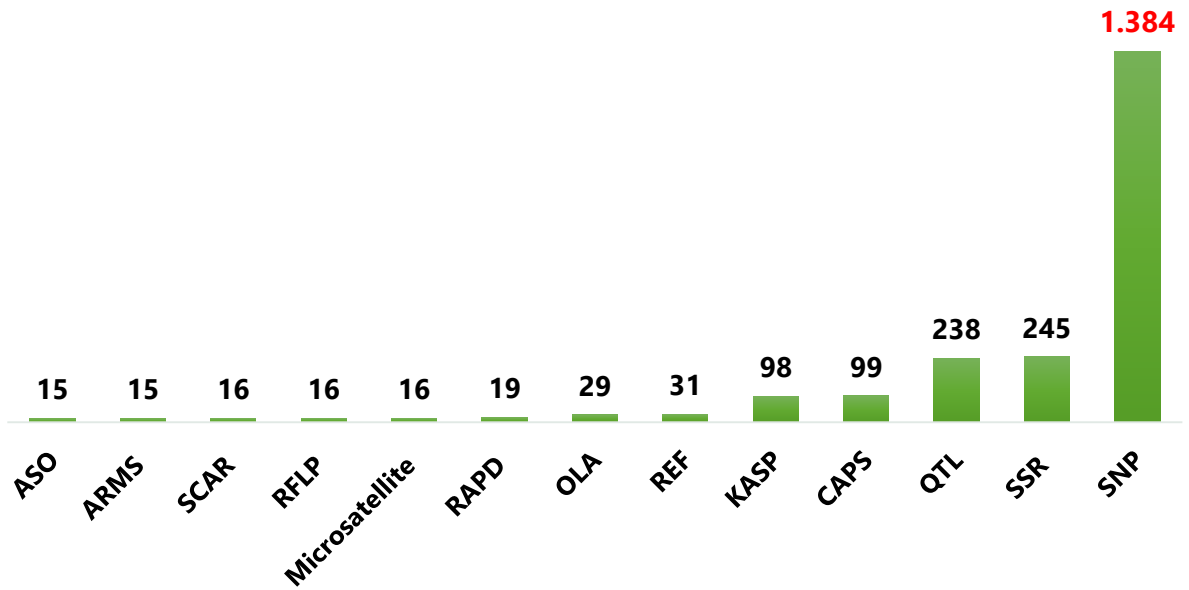
Dấu hiệu phân tử (A molecular marker) được định nghĩa là một phân tử sinh học có thể được coi là chỉ số có thể đo lường được tìm thấy trong máu và các chất dịch cơ thể khác hoặc các mô, mà qua đó, có thể xác định được một quá trình bệnh lý hoặc sinh lý cụ thể, hoặc một tình trạng hoặc bệnh tật.

Theo Milee Agarwal và cộng sự, phát hiện và phân tích biến dị di truyền có thể giúp chúng ta hiểu được cơ sở phân tử của nhiều hiện tượng sinh học khác nhau ở thực vật. Các dấu hiệu phân tử và mối tương quan của chúng với kiểu hình cung cấp cho các nhà khoa học các chỉ mốc cần thiết để làm sáng tỏ biến dị di truyền. Các kỹ thuật đánh dấu dựa trên di truyền hoặc DNA như RFLP (đa hình chiều dài đoạn giới hạn), RAPD (ADN đa hình khuếch đại ngẫu nhiên), SSR (trình tự lặp lại đơn giản) và AFLP (đa hình chiều dài đoạn khuếch đại) thường được sử dụng trong các nghiên cứu sinh thái, tiến hóa, phân loại, phát sinh loài và di truyền của khoa học thực vật. Các kỹ

thuật này đã được thiết lập tốt và những ưu điểm cũng như hạn chế của chúng đã được kiểm soát. Trong những năm gần đây, các kỹ thuật tiên tiến mới đã ra đời, bắt nguồn từ sự kết hợp của các kỹ thuật trước đó. Các phương pháp mới kết hợp các sửa đổi trong phương pháp luận của các kỹ thuật cơ bản để tăng độ nhạy và độ phân giải nhằm phát hiện sự gián đoạn và tính khác biệt về mặt di truyền. Các kỹ thuật đánh dấu tiên tiến này sử dụng lớp yếu tố DNA mới hơn như retrotransposon, vi vệ tinh dựa trên ty thể và lục lạp, do đó tiết lộ biến thể di truyền thông qua phạm vi bao phủ bộ gen tăng lên. Các kỹ thuật như RAPD và AFLP cũng đang được áp dụng cho các khuôn mẫu dựa trên cDNA để nghiên cứu các mô hình biểu hiện gen và khám phá cơ sở di truyền của các phản ứng sinh học.

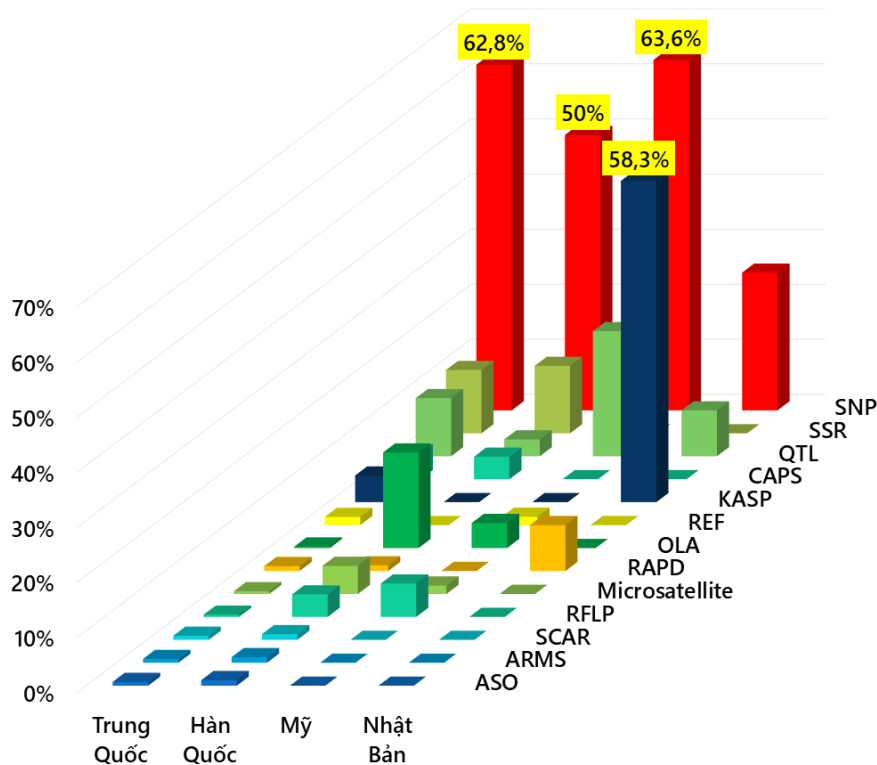
Trong số những kỹ thuật chỉ thị phân tử được nghiên cứu, ứng dụng trong công tác chọn tạo giống cây lương thực, công nghệ SNP (đa hình nucleotide đơn) có số lượng đơn đăng ký sáng chế nhiều nhất, chiếm 56% (1.384 đơn), kế đến là công nghệ SSR (chuỗi lặp đơn giản) 10% (245 đơn), công nghệ QTL (phân tích vị trí đặc điểm định lượng) cũng được nghiên cứu và ứng dụng nhiều để tạo giống cây lương thực 9,7% (238 đơn).

Sáng chế "*Phương pháp phát hiện chip cho dấu hiệu Map-5147SNP liên quan đến kháng thuốc của tuyến trùng nang đậu nành và ứng dụng*" (mã số CN106148491B), do Viện Khoa học cây trồng (Viện Khoa học Nông nghiệp Trung Quốc) đăng ký bảo hộ ngày 1/4/2015 đã công bố phương pháp phát hiện chip cho một dấu hiệu Map-5147SNP liên quan đến khả năng kháng bệnh của tuyến trùng nang đậu nành và ứng dụng, cung cấp ứng dụng của một chất để phát hiện kiểu gen đa hình hoặc di truyền của một locus Map-5147SNP trong bộ gen đậu nành trong việc xác định hoặc hỗ trợ xác định khả năng kháng bệnh của đậu nành đối với chủng sinh lý tuyến trùng nang đậu nành số 3, và cung cấp thêm ứng dụng của một chất để phát hiện kiểu gen đa hình hoặc di truyền của một locus Map-5147SNP trong bộ gen đậu nành trong việc chuẩn bị một sản phẩm để xác định hoặc hỗ trợ xác định khả năng kháng bệnh của đậu nành đối với chủng sinh lý tuyến trùng nang đậu nành số 3. Các thí nghiệm chứng minh rằng bằng cách phát hiện kiểu gen của sen Map-5147SNP đã sàng lọc, khả năng kháng bệnh của tuyến trùng nang đậu nành số 3 có thể được thực hiện trên các vật liệu nhân giống ở giai đoạn đầu của một giống, hiệu quả chọn lọc của một giống kháng bệnh trong quá trình nhân giống được cải thiện, thời gian nhân giống được rút ngắn đáng kể và hiệu quả nhân giống trên một giống kháng tuyến trùng nang đậu nành là rất ấn tượng.



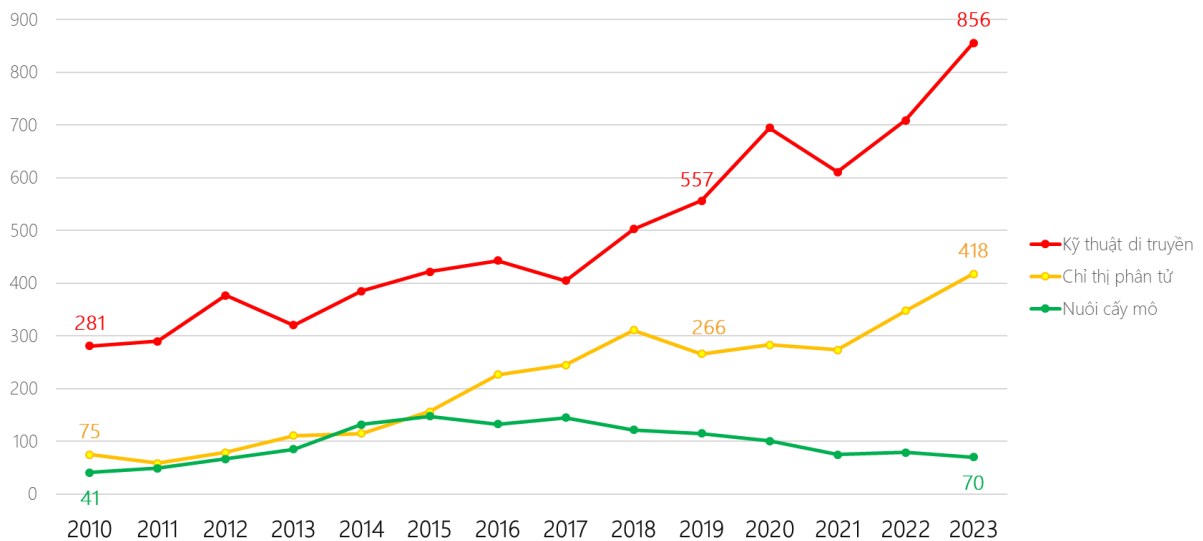
Hình 1.8. Hướng nghiên cứu chỉ thị phân tử được ứng dụng trong tạo giống cây lương thực

Xem xét về tình hình nghiên cứu CNSH theo kỹ thuật chỉ thị phân tử tại từng quốc gia, nhận thấy rằng: tỷ lệ đơn đăng ký sáng chế theo kỹ thuật SNP (đa hình nucleotide đơn) tại Mỹ, Hàn Quốc và Trung Quốc chiếm trọng số cao nhất. Tại Nhật, tỷ lệ đơn đăng ký sáng chế về kỹ thuật KASP (xét nghiệm kiểu gen) chiếm vị trí ưu thế so với các kỹ thuật khác.



Hình 1.9. Bảo hộ sáng chế chỉ thị phân tử tại một số quốc gia trên thế giới

Trong giai đoạn 2010-2023, số lượng đơn đăng ký sáng chế về kỹ thuật di truyền và chỉ thị phân tử đều có xu hướng tăng. Kỹ thuật Chỉ thị di truyền tăng trưởng cao nhất, đạt gần 900 đơn đăng ký sáng chế năm 2023 (gần 3 lần so với năm 2010); kỹ thuật CTPT tăng gần 6 lần, từ 75 đơn đăng ký (2010) lên 418 đơn đăng ký vào năm 2023. Nuôi cấy mô có xu hướng tăng trong giai đoạn từ 2010-2017 và giảm dần sau đó cho đến ngày nay.



Hình 1.10. Bảo hộ sáng chế phục vụ công tác tạo giống cây lương thực, giai đoạn 2010-2023

Phân tích tốc độ tăng trưởng kép của các kỹ thuật ứng dụng trong công tác tạo giống cây lương thực giai đoạn 2018-2023, tốc độ tăng trưởng kép kỹ thuật di truyền cao nhất, đạt trung bình 11%/năm; tốc độ tăng trưởng kép hàng năm của kỹ thuật Chỉ thị phân tử đạt 6%/năm. Riêng kỹ thuật nuôi cấy mô có tăng trưởng âm (-11%).

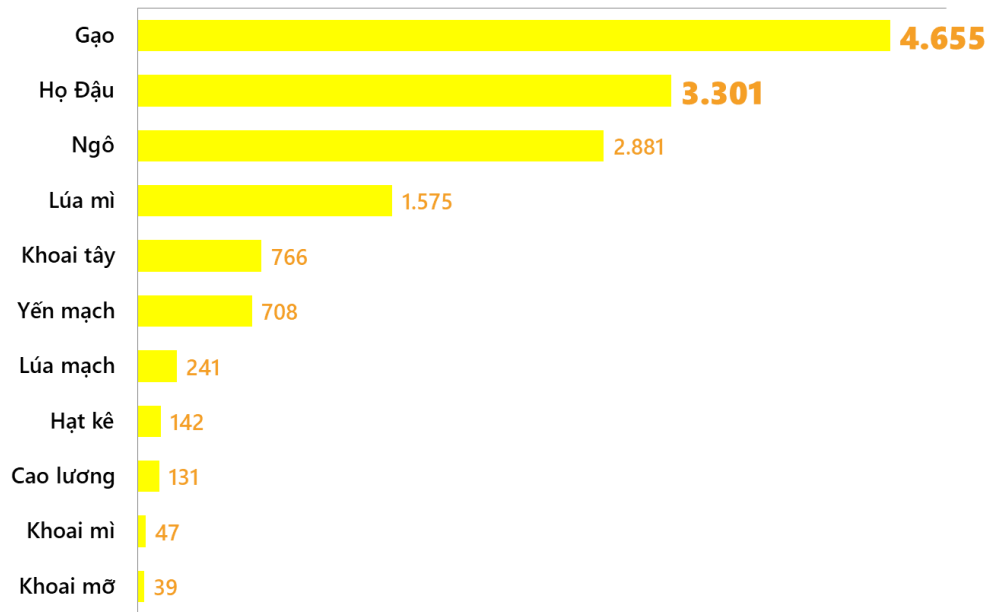


Hình 1.11. Bảo hộ sáng chế phục vụ công tác tạo giống cây lương thực, giai đoạn 2010-2023

1.3.4 Ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo giống cây lương thực

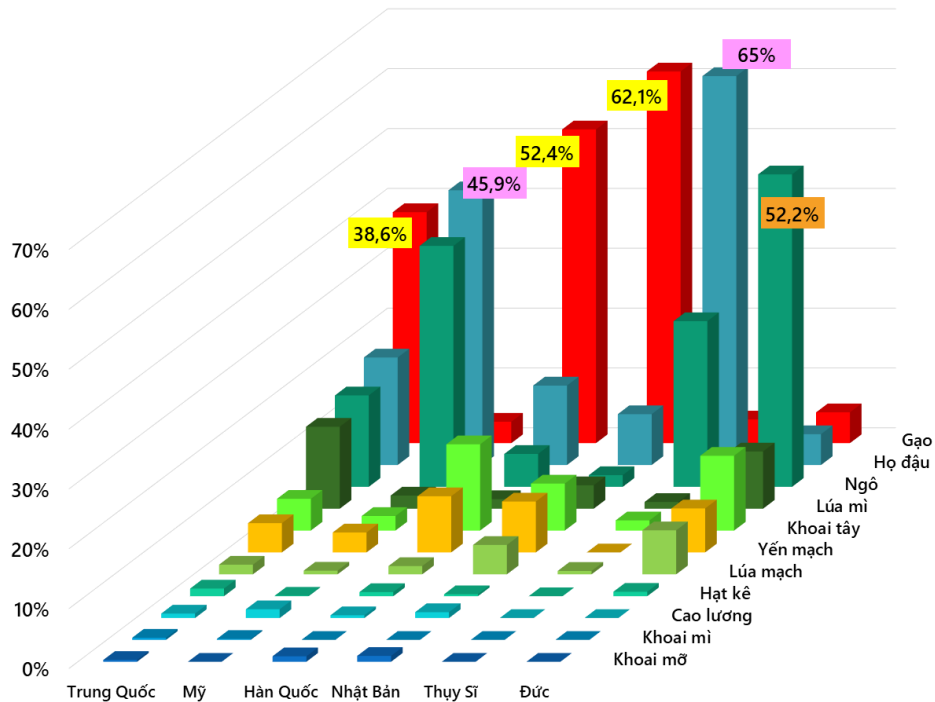
Biến đổi khí hậu đã và đang tác động sâu sắc đến nông nghiệp và đời sống của con người. Những hiện tượng như hạn hán kéo dài, xâm nhập mặn, ngập úng hay sự gia tăng sâu bệnh đang diễn ra ngày càng phức tạp, gây tổn hại nặng nề cho sản xuất nông nghiệp. Để đảm bảo an ninh lương thực, cung cấp nguyên liệu cho công nghiệp chế biến và góp phần phát triển kinh tế, các nhà khoa học đã và đang tập trung nghiên cứu và phát triển các giống cây lương thực mới cho năng suất cao, chất lượng tốt, thích ứng với biến đổi khí hậu, thông qua nghiên cứu, ứng dụng CNSH vào công tác tạo giống, ví dụ như kỹ thuật di truyền, chỉ thị phân tử, nuôi cấy mô; hoặc lai tạo truyền thống kết hợp cải tiến, tạo biến dị di truyền bằng sử dụng tác nhân vật lý hoặc hóa học; ứng dụng trí tuệ nhân tạo để nhận diện các đặc điểm di truyền có lợi cho cây trồng, rút ngắn thời gian chọn tạo giống mới...

CNSH được ứng dụng cho hầu hết các giống cây lương thực (gạo, đậu, ngô, lúa mì, khoai tây, yến mạch, lúa mạch, hạt kê, cao lương,...). Trong các giống cây lương thực, có 29% sáng chế đăng ký bảo hộ liên quan đến việc tạo ra các giống lúa gạo (3.655 sáng chế), xếp thứ hai là nhóm các loại đậu (đậu nành, đậu phộng,...) với 3.301 đơn đăng ký sáng chế, tương đương 21%, các giống ngô nhận được sự quan tâm của các nhà khoa học với 2.881 đơn đăng ký sáng chế (18%). Sáng chế "*Ứng dụng gen RBB1 trong sản xuất vật liệu giống vảy lúa và điều hòa, kiểm soát khả năng kháng nhiễm khuẩn gây bệnh của lúa*" do Viện Di truyền Nông nghiệp Trung Quốc nghiên cứu và đăng ký bảo hộ sáng chế ngày 3/1/2024, đề cập đến việc tạo ra gen giống như gen gây tổn thương lúa RBB1, sau khi gen RBB1 bị đột biến, lúa biểu hiện các lá giống như tổn thương, và sau khi gen RBB1 được bổ sung, các lá giống như tổn thương biến mất. Theo các nhà nghiên cứu, sau khi gen RBB1 bị đột biến, khả năng kháng nhiễm vi khuẩn gây bệnh của lúa được tăng cường, do đó gen RBB1 có thể được sử dụng để điều chỉnh và kiểm soát khả năng kháng nhiễm vi khuẩn gây bệnh của lúa. Các nhà nghiên cứu cũng phát hiện quá trình tổng hợp UDP-GlcNAc của lúa bị giảm do tổn thương di truyền của RBB1 và gen RBB1 có thể được sử dụng để phát hiện khả năng kháng nhiễm vi khuẩn gây bệnh của lúa.



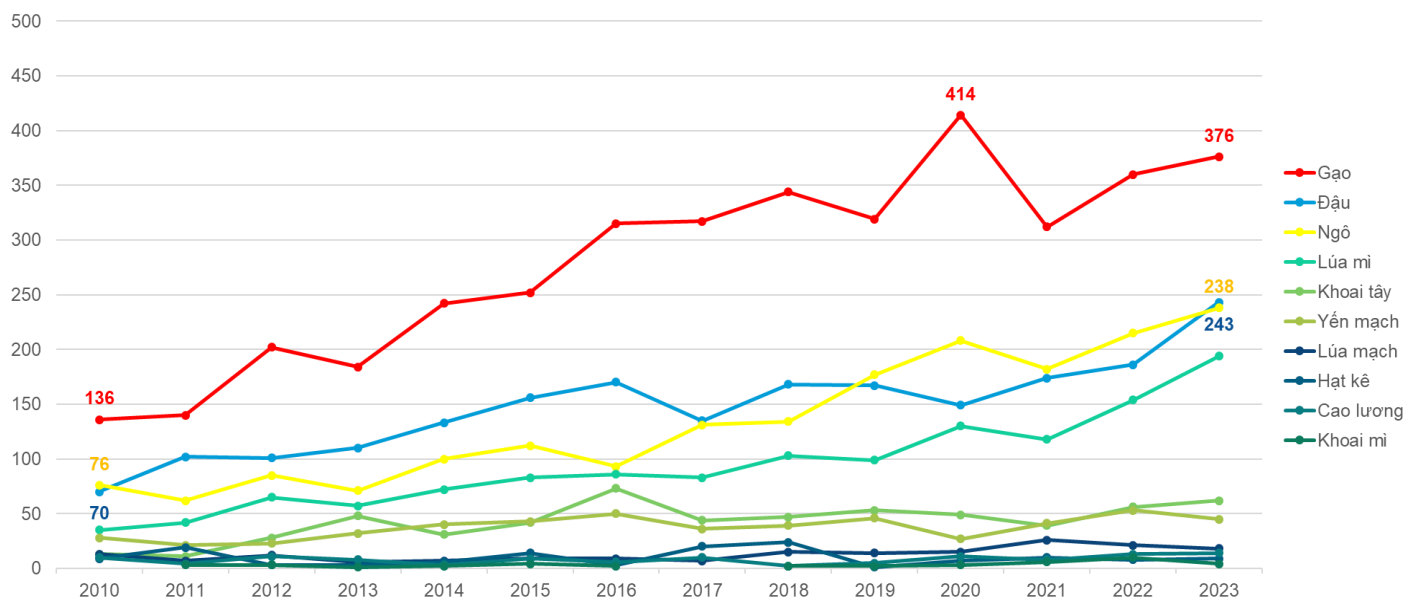
Hình 1.12. Ứng dụng CNSH trong một số giống cây lương thực

Xem xét một số quốc gia có nhiều đơn đăng ký bảo hộ sáng chế liên quan đến tạo giống cây lương thực như Trung Quốc, Mỹ, Hàn, Nhật, Thụy Sĩ, Đức, tại các quốc gia châu Á (Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản) có tỷ trọng đơn đăng ký sáng chế về giống lúa gạo nhiều nhất. Tại Đức, ngô là nhóm có tỉ lệ đơn đăng ký sáng chế cao nhất. Còn Thụy Sĩ, Mỹ thì tỷ lệ được ưu tiên là các cây họ đậu.



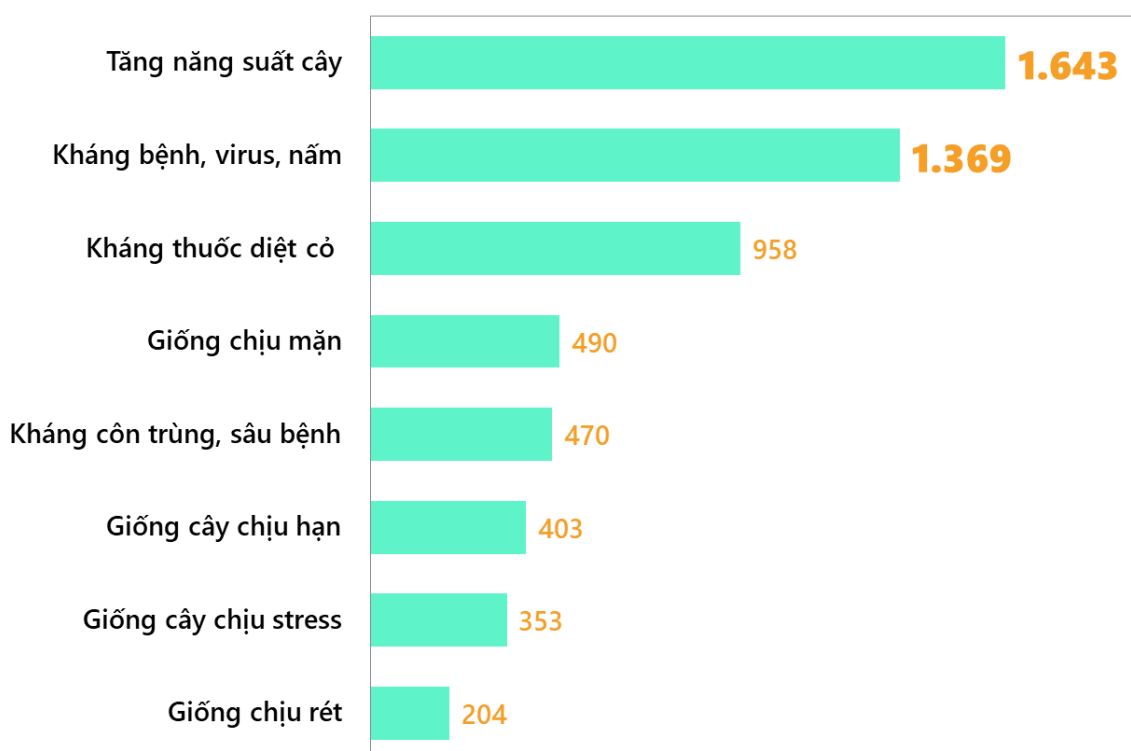
Hình 1.13. Bảo hộ sáng chế ứng dụng CNSH vào tạo giống lương thực tại một số quốc gia

Trong giai đoạn 2010-2023, gạo, ngô, đậu, lúa mì là 4 nhóm cây lương thực có xu hướng tăng trưởng đơn đăng ký sáng chế khá ổn định. Lúa, gạo có tỉ lệ tăng trưởng nhiều nhất, vượt xa 3 nhóm cây lương thực còn lại. Riêng trong năm 2023, lúa gạo có số đơn đăng ký sáng chế đăng ký gấp 1,54 lần nhóm cây họ đậu (nhóm tăng trưởng liền kề).



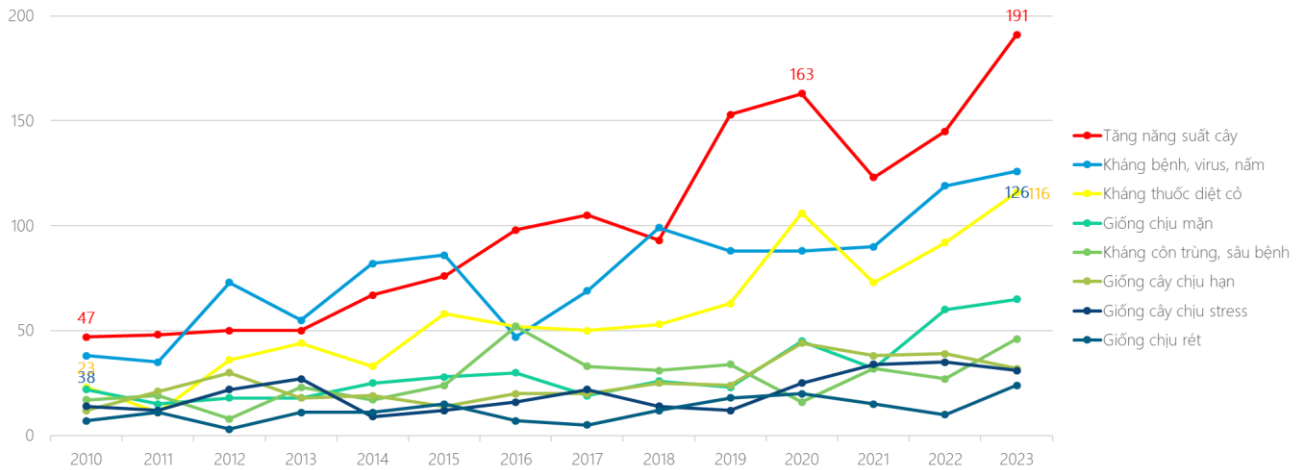
Hình 1.14. Tình hình nghiên cứu theo một số nhóm cây lương thực giai đoạn 2010 -2023

Để đảm bảo an ninh lương thực trước tình hình biến đổi khí hậu phức tạp, tình trạng đất canh tác bị thu hẹp cũng như giảm tác hại đến môi trường do dư lượng thuốc trừ sâu, thuốc bảo vệ thực vật ngành nông nghiệp gây ra, tiến tới mục tiêu phát triển bền vững, việc nghiên cứu giống lương thực tăng năng suất, mang gen chịu hạn, chịu rét, kháng sâu bệnh, thuốc diệt cỏ... được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm. Trong đó, các nghiên cứu nhằm gia tăng năng suất cây trồng được đăng ký bảo hộ sáng chế nhiều nhất 27% (1.643 đơn đăng ký), đây cũng là biện pháp giải quyết phần nào tình trạng thiếu đất canh tác hiện nay. Nghiên cứu giống lương thực mang gen kháng bệnh, virus, nấm giúp giảm thiểu tình trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và dư lượng thuốc trong thực vật xếp thứ hai (22,6%), với 1.369 đơn đăng ký bảo hộ sáng chế đã được nộp trên toàn thế giới từ năm 1982. Xếp thứ ba là nhóm cây lương thực có khả năng kháng thuốc diệt cỏ 16% (958 đơn đăng ký). Mang gen kháng thuốc diệt cỏ sẽ giúp cây lương thực phát triển bình thường, duy trì năng suất ổn định.



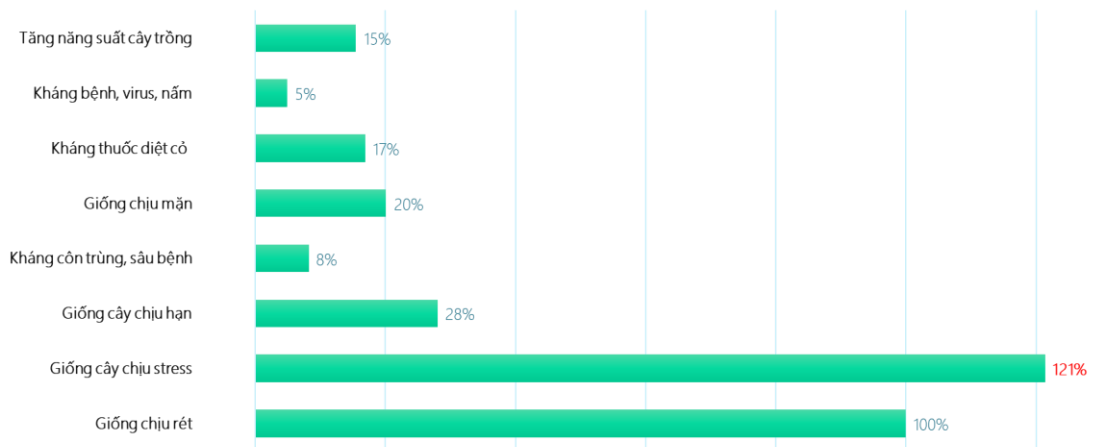
Hình 1.15. Tình hình nghiên cứu theo một số giống cây lương thực trên thế giới

Giai đoạn 2010-2023, việc nghiên cứu tạo giống cây lương thực theo mục đích có sự thay đổi. Nghiên cứu tăng năng suất cây trồng có xu hướng tăng mạnh nhất; thứ nhì là nghiên cứu các nhóm cây kháng bệnh, virus, nấm; thứ ba là nghiên cứu nhóm cây kháng thuốc diệt cỏ. Riêng mục đích tăng năng suất cây trồng, từ năm 2018 đã có sự tăng trưởng mạnh trong công tác nghiên cứu và dẫn đầu về số lượng sáng chế đăng ký đến nay. Sáng chế "Gen liên quan đến hạt dài gạo và ứng dụng tương tự" của Viện Khoa học Sinh học Thượng Hải đăng ký bảo hộ (ngày 2/3/2012) là một ví dụ, các nhà nghiên cứu đã ứng dụng để tạo ra gen hạt gạo dài, đặc biệt tiết lộ gen liên quan đến hạt dài GL3 lần đầu tiên, thông qua các nghiên cứu về rất nhiều loca tính trạng định lượng gạo, được sử dụng để mã hóa serine/threonine phosphatase. So với protein GL3 ở bố mẹ hạt nhỏ, protein GL3 ở bố mẹ hạt dài/hạt lớn có đột biến axit amin, do đó bị suy giảm trong hoạt động phosphatase. Sáng chế liên quan đến protein đột biến GL3 với hoạt tính enzyme giảm, trình tự mã hóa của chúng và ứng dụng cho protein đột biến GL3 nhằm biến đổi tăng chiều dài hạt và năng suất cây.



Hình 1.16. Tình hình nghiên cứu giống cây theo mục đích giai đoạn 2010-2023

Giai đoạn 2018-2023, giống cây chịu stress có tốc độ tăng trưởng kép về đơn đăng ký sáng chế đạt 121%/năm, cao nhất trong các nhóm mục đích nghiên cứu tạo giống cây lương thực. Kế tiếp là giống cây chịu rét, tốc độ tăng trưởng kép 100%/năm và giống chịu hạn tốc độ tăng trưởng kép đạt 28%/năm. Tốc độ tăng trưởng này cho thấy các nhà nghiên cứu đang tập trung cao trong việc tạo ra các giống cây có khả năng chống chịu với những biến đổi về khí hậu ngày càng khó kiểm soát như hiện nay.



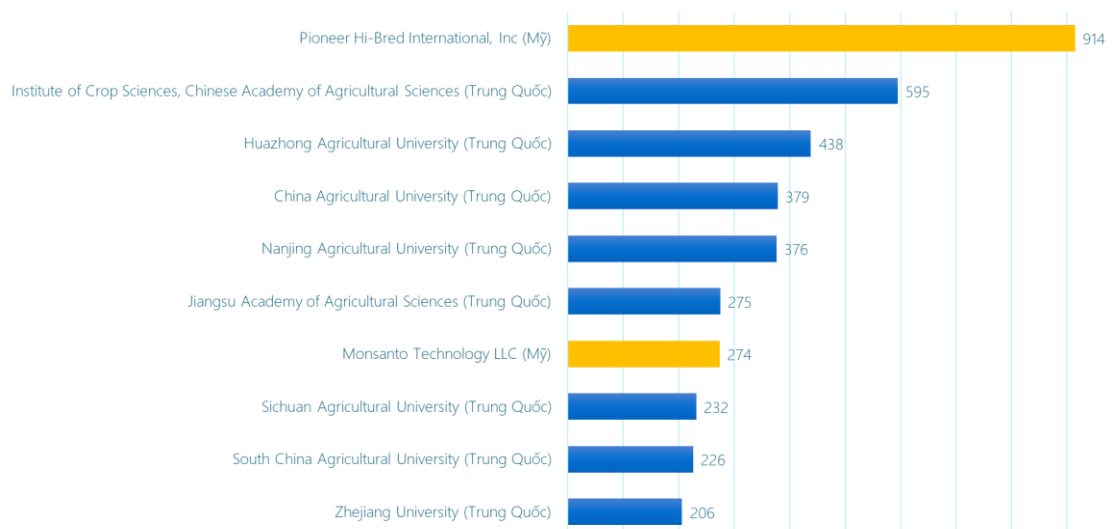
Hình 1.17. Tốc độ tăng trưởng kép trong nghiên cứu tạo giống lương thực theo mục đích trong 5 năm gần đây (2018-2023)

1.4 Các đơn vị sở hữu nhiều sáng chế về CNSH phục vụ công tác tạo giống cây lương thực

1.4.1 Các đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế

Trong 10 đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế về CNSH phục vụ công tác tạo giống cây lương thực, có 8 đơn vị là viện trường của Trung Quốc, 2 đơn vị là doanh

ngiệp của Mỹ. Tuy số lượng đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế không nhiều như Trung Quốc, nhưng Mỹ là quốc gia có đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế nhất trong bảng xếp hạng (914 đơn đăng ký).



Hình 1.18. Các đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế trên thế giới

1.4.2 Đăng ký bảo hộ của các đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế

Đa số các đơn vị sở hữu nhiều sáng chế đều đăng ký bảo hộ ngay tại quốc gia đặt trụ sở chính, rất ít đăng ký bảo hộ tại quốc gia khác. Trong bảng là trình hình đăng ký bảo hộ của các đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế nhất trên thế giới Pioneer Hi-Bred International, Inc. (Mỹ); Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences (Trung Quốc); China Agricultural University (Trung Quốc)...

Bảng 1.1 Đăng ký bảo hộ của Top 10 đơn vị sở hữu nhiều đơn đăng ký sáng chế

Tên tổ chức + Nước	Loại tổ chức	Trung Quốc	Mỹ	Thụy Sĩ	Quốc gia khác
Pioneer Hi-Bred International, Inc. (Mỹ)	Doanh nghiệp	15	897		2
Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences (Trung Quốc)	Viện, Trường Đại học	594		1	
Huazhong Agricultural University (Trung Quốc)	Viện, Trường Đại học	438			
China Agricultural University (Trung Quốc)	Viện, Trường Đại học	379			
Nanjing Agricultural University (Trung Quốc)	Viện, Trường Đại học	376			
Jiangsu Academy of Agricultural Sciences (Trung Quốc)	Viện, Trường Đại học	275			
Monsanto Technology LLC (Mỹ)	Doanh nghiệp		273		1
Sichuan Agricultural University (Trung Quốc)	Viện, Trường Đại học	232			
South China Agricultural University (Trung Quốc)	Viện, Trường Đại học	226			
Zhejiang University (Trung Quốc)	Viện, Trường Đại học	206			

PHẦN 2 - CÁC SÁNG CHẾ CNSH PHỤC VỤ CÔNG TÁC TẠO GIỐNG CÂY LƯƠNG THỰC TẠI VIỆT NAM

2.1 Các sáng chế được bảo hộ tại Việt Nam

Theo cơ sở dữ liệu WIPO Publish (công bố tại Cục Sở hữu trí tuệ), tính đến ngày 12/2024, có 54 tài liệu sáng chế liên quan đến công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực đã được đăng ký bảo hộ tại Việt Nam (Kỹ thuật di truyền - 49; Chỉ thị phân tử - 4; Nuôi cấy mô - 1). Các sáng chế/giải pháp hữu ích này có nguồn gốc từ Mỹ (19) Trung Quốc (8), Thụy Sĩ (5) và một số quốc gia khác. Riêng Việt Nam, có 11 sáng chế/giải pháp hữu ích với chủ đơn là các viện nghiên cứu, trường đại học và doanh nghiệp (Kỹ thuật di truyền - 9; Chỉ thị phân tử - 1; Nuôi cấy mô - 1).

Về chủng loại cây: Lúa là loại cây được đăng ký bảo hộ nhiều nhất ở Việt Nam, với 21 đơn của nước ngoài và 5 của người Việt. Xếp thứ nhì là ngô, 15 đơn của nước ngoài, 2 đơn của người Việt. Đứng thứ ba là đậu tương, với 5 đơn của người nước ngoài, 3 đơn của người Việt.

2.1.1 Về một số đơn đăng ký sáng chế ứng dụng kỹ thuật di truyền trong chọn tạo giống lương thực

- **Đoạn trình tự khởi động phân lập từ gen lúa (*Oryza sativa*) biểu hiện đặc hiệu ở nhụy và bao phấn của bông lúa, vectơ tái tổ hợp biểu hiện và cây chuyển gen chứa vectơ này**

Số đơn: 1-2024-02364

Chủ đơn: Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội

Tác giả sáng chế: Đặng Thị Thùy Dương, Trần Tuấn Anh, Đỗ Tiến Phát, Tô Thị Mai Hương

Tóm tắt: Sáng chế đề cập đến đoạn trình tự khởi động biểu hiện gen đặc hiệu ở nhụy và bao phấn có nguồn gốc từ gen lúa (*Oryza sativa*) Os09g0339800, vectơ tái tổ hợp biểu hiện và cây chuyển gen chứa vectơ tái tổ hợp, trong đó gen ngoại lai được biểu hiện đặc hiệu ở hệ thống nhụy và bao phấn. Vì tính đặc hiệu của trình tự khởi động phân lập từ Os09g0339800 tốt ở các vùng liên quan tới sinh sản của cây lúa, cụ thể là ở nhụy và ở bao phấn, nó có thể được sử dụng để kiểm soát sự biểu hiện của các gen

liên quan đến khả năng quá trình sinh sản hoặc tạo ra các dòng bất dục đực, có tiềm năng lớn trong công nghệ lúa lai.

- **Cặp mồi phát hiện giống lúa Nàng Thơm Chợ**

Số đơn: 1-2021-04819

Chủ đơn: Trường Đại học Cần Thơ

Tác giả sáng chế: Huỳnh Kỳ, Văn Quốc Giang, Nguyễn Nhật Thanh

Tóm tắt: Sáng chế đề cập đến cặp mồi (primer) phát hiện giống lúa Nàng Thơm Chợ Đào sử dụng trong quy trình khuếch đại PCR (Polymerase-Chain-Reaction), bao gồm: cặp mồi thứ nhất bao gồm mồi xuôi (forward primer) và mồi ngược (reverse primer) lần lượt có trình tự được thể hiện trong SEQ ID NO.1 và SEQ ID NO.2.

- **Đoạn trình tự khởi động cảm ứng với stress và biểu hiện đặc hiệu ở hệ rễ phân lập từ gen lúa, vectơ tái tổ hợp biểu hiện và cây chuyển gen chứa vectơ này**

Số đơn: 1-2021-07672

Chủ đơn: Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội

Tác giả sáng chế: Tô Thị Mai Hương, Tạ Anh Sơn

Tóm tắt: Sáng chế đề cập đến trình tự khởi động biểu hiện gen cụ thể ở rễ và cảm ứng với stress có nguồn gốc từ gen lúa (*Oryza sativa*) Os01g0284500 và những ứng dụng của nó; vectơ chuyển gen bao gồm trình tự khởi động phân lập từ Os01g0284500 được gắn với một gen ngoại lai quan tâm, và quá trình biến nạp cấu trúc này vào tế bào thực vật để tái sinh thành cây nguyên vẹn. Sáng chế đề cập đến cây chuyển gen và hạt của chúng, trong đó gen ngoại lai được biểu hiện đặc hiệu ở hệ thống rễ khi có stress. Vì tính đặc hiệu của trình tự khởi động phân lập từ Os01g0284500 tốt ở các vùng tăng trưởng của rễ, chẳng hạn như gốc rễ, rễ tiên phiôi, rễ đỉnh, và rễ bên dưới các điều kiện stress khác nhau, nó có thể được sử dụng để kiểm soát sự biểu hiện của các gen liên quan đến khả năng chống chịu stress môi trường hoặc có mã hóa các tính trạng rễ có lợi về mặt nông học.

- **gARN trong cấu trúc biểu hiện dùng để chỉnh sửa promotơ OsWEET14 và quy trình chuyển cấu trúc CRISPR/Cas9 mang trình tự gARN vào giống lúa Bắc thơm 7**

Số đơn: 1-2020-05831

Chủ đơn: Viện Di truyền Nông nghiệp

Tác giả sáng chế: Cao Lệ Quyên, Phạm Xuân Hội, Nguyễn Duy Phương

Tóm tắt: Sáng chế đề cập đến quy trình chuyển cấu trúc CRISPR/Cas9 mang trình tự gARN đặc hiệu vào giống lúa Bắc thơm 7 để chỉnh sửa promoter OsSWEET14 giúp tăng tính kháng bệnh bạc lá thông qua phương pháp chuyển gen bằng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* EHA 105, quy trình gồm các bước sau:

- (i) Sinh tổng hợp cấu trúc biểu hiện mang 2 trình tự gARN đặc hiệu cho promoter OsSWEET14 của lúa Bắc thơm 7
- (ii) Ghép nối cấu trúc biểu hiện mang trình tự gRNA đặc hiệu vào vector pCas9
- (iii) Biến nạp vector pCas9 mang cấu trúc biểu hiện gARN đặc hiệu cho promoter OsSWEET14 của lúa Bắc thơm 7 vào vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* EHA105
- (iv) Nuôi cấy phôi trưởng thành của lúa Bắc thơm 7 trên môi trường tạo mô sẹo
- (v) Đồng nuôi cấy mô sẹo với vi khuẩn *Agrobacterium* tái tổ hợp
- (vi) Nuôi cấy mô sẹo trên môi trường chọn lọc
- (vii) Nuôi cấy mô sẹo trên môi trường tái sinh chồi và rễ
- (viii) Sàng lọc các dòng lúa mang gen chuyển bằng kỹ thuật PCR
- (ix) Xác định dòng lúa chỉnh sửa gen bằng giải trình tự vùng promoter OsSWEET14
- (x) Đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá của dòng lúa chỉnh sửa gen.

• **Chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* serovar *aizawai* Đ6.1 thuần khiết về mặt sinh học mang gen mã hóa protein độc tố Cry2Ah1 diệt sâu đục quả đậu tương**

Số đơn: 2-2020-00573

Chủ đơn: Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Tác giả sáng chế: Trịnh Thị Thu Hà, Lê Thị Minh Thành, Ngô Đình Bính, Đông Văn Quyền

Tóm tắt: Giải pháp hữu ích đề cập đến chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* serovar *aizawai* Đ6.1 thuần khiết về mặt sinh học phân lập tại Việt Nam, có khả năng tạo bào tử và sinh tổng hợp protein tinh thể độc tố Cry2Ah1 diệt côn trùng bộ cánh vẩy (Lepidoptera), cụ thể là sâu đục quả đậu tương (*Etiella zinkenella*). Chủng *Bacillus thuringiensis* serovar *aizawai* Đ6.1 thuần khiết về mặt sinh học theo giải pháp hữu ích mang cấu trúc đoạn gen *cry2Ah1* có kích thước 1899bp, mã hóa 633 axit amin sản sinh protein độc tố Cry2Ah1, protein Cry2Ah1 có trọng lượng 71 kDa và diệt sâu đục quả đậu tương *Etiella zinkenella*. Cấu trúc đoạn gen *cry2Ah1* đã được đăng ký trên ngân hàng gen Quốc tế với mã số: MN725074.

- **Chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* serovar *canadensis* SP14.2 thuần khiết về mặt sinh học mang gen mã hóa protein độc tố Cry2Ab39 diệt sâu đục quả đậu tương**

Số đơn: 1-2020-06575

Chủ đơn: Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Tác giả sáng chế: Trịnh Thị Thu Hà, Lê Thị Minh Thành, Ngô Đình Bính, Chu Hoàng Hà, Phạm Bích Ngọc, Lê Thu Ngọc

Tóm tắt: Sáng chế đề cập đến chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* serovar *canadensis* SP14.2 thuần khiết về mặt sinh học phân lập tại Việt Nam, có khả năng tạo bào tử và sinh tổng hợp protein tinh thể độc tố Cry2Ab39 diệt côn trùng bộ cánh vẩy (Lepidoptera), cụ thể là sâu đục quả đậu tương (*Etiella zinkenella*). Chủng *Bacillus thuringiensis* serovar *canadensis* SP14.2 thuần khiết về mặt sinh học theo sáng chế mang cấu trúc đoạn gen cry2Ab39 có kích thước 1899 bp, mã hóa 633 axit amin sản sinh protein độc tố Cry2Ab39 có trọng lượng 70.79 kDa và diệt sâu đục quả đậu tương *Etiella zinkenella*, gen cry2Ab39 đã được đăng ký trên ngân hàng gen Quốc tế với mã số: MN319700, protein độc tố Cry2Ab39 với mã số QIQ19560 trong cơ sở dữ liệu của Trung tâm Tài nguyên protein vi khuẩn kháng sâu (The Bacterial Pesticidal Protein Resource Center - BPPRC).

- **Phân tử ADN tái tổ hợp có nguồn gốc từ sự kiện chuyển gen C4-52-1 và cây ngô chuyển gen chịu hạn chứa phân tử này**

Số đơn: 2-2018-00238

Chủ đơn: Viện Nghiên cứu Ngô

Tác giả sáng chế: Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Xuân Thắng, Đoàn Thị Bích Thảo

Tóm tắt: Giải pháp hữu ích đề xuất sự kiện C4-52-1, cụ thể là đề cập đến phân tử ADN tái tổ hợp có nguồn gốc từ sự kiện chuyển gen C4-52-1 và cây ngô chuyển gen chịu hạn chứa phân tử này. Cây ngô theo giải pháp hữu ích có khả năng di truyền và biểu hiện ổn định sự kiện C4-52-1 qua các thế hệ để tăng cường tính chịu hạn cho cây. Ngoài ra, giải pháp hữu ích còn đề cập đến các đoạn mồi đặc hiệu để nhận biết sự kiện C4-52-1 này.

- **Gen chịu hạn của cây ngô, quy trình chuyển gen chịu hạn vào cây ngô và cây ngô thu được từ quy trình này**

Số đơn: 2-2015-00391

Chủ đơn: Viện Nghiên cứu Ngô

Tác giả sáng chế: Đoàn Thị Bích Thảo, Nguyễn Văn Trường, Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Xuân Thắng, Huỳnh Thị Thu Huệ, Ngô Thị Minh Tâm, Nông Văn Hải.

Tóm tắt: Giải pháp hữu ích đề cập đến gen chịu hạn của cây ngô modiCspB được thiết kế chứa các nucleotit được cải biến thích hợp để biểu hiện trong thực vật, trong đó có 45 điểm cải biến so với trình tự gen CspB trong ngân hàng gen. Gen modiCspB này được gắn với trình tự khởi đầu CAMV35S và trình tự kết thúc CAMV35S để dễ dàng chuyển vào và biểu hiện trên cây ngô. Giải pháp hữu ích cũng đề cập đến phương pháp chuyển gen vào cây ngô, trong đó cấu trúc chứa gen modiCsB được đưa vào hệ vectơ biểu hiện thực vật pCAMBIA 1300 và được chuyển gen vào cây ngô thông qua vi khuẩn *A.tumefaciens* và dòng ngô chuyển gen chịu hạn chứa trình tự modiCspB này.

2.1.2 Về một số đơn đăng ký sáng chế ứng dụng kỹ thuật chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lương thực

- **Gen Bph30 ở cây lúa kháng rầy nâu và chỉ thị phân tử S7 liên kết với nó**

Số đơn: 1-2020-05831

Chủ đơn: Viện Di truyền Nông nghiệp

Tác giả sáng chế: Cao Lệ Quyên, Phạm Xuân Hội, Nguyễn Duy Phương.

Tóm tắt: Sáng chế đề cập đến quy trình chuyển cấu trúc CRISPR/Cas9 mang trình tự gARN đặc hiệu vào giống lúa Bắc thơm 7 để chỉnh sửa promotơ OsSWEET14 giúp tăng tính kháng bệnh bạc lá thông qua phương pháp chuyển gen bằng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* EHA 105, quy trình gồm các bước sau:

- (i) sinh tổng hợp cấu trúc biểu hiện mang 2 trình tự gARN đặc hiệu cho promotơ OsSWEET14 của lúa Bắc thơm 7
- (ii) ghép nối cấu trúc biểu hiện mang trình tự gRNA đặc hiệu vào vector pCas9
- (iii) biến nạp vector pCas9 mang cấu trúc biểu hiện gARN đặc hiệu cho promotơ OsSWEET14 của lúa Bắc thơm 7 vào vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* EHA105
- (iv) nuôi cấy phôi trưởng thành của lúa Bắc thơm 7 trên môi trường tạo mô sẹo
- (v) đồng nuôi cấy mô sẹo với vi khuẩn *Agrobacterium* tái tổ hợp
- (vi) nuôi cấy mô sẹo trên môi trường chọn lọc
- (vii) nuôi cấy mô sẹo trên môi trường tái sinh chồi và rễ

(viii) sàng lọc các dòng lúa mang gen chuyển bằng kỹ thuật PCR

(ix) xác định dòng lúa chỉnh sửa gen bằng giải trình tự vùng promoter OsSWEET14

(x) đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá của dòng lúa chỉnh sửa gen.

2.1.3 Về một số đơn đăng ký sáng chế ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô trong chọn tạo giống lương thực

- **Quy trình tạo mô sẹo phôi hóa (FEC) ở các giống sản thương mại của Việt Nam**

Số đơn: 1-2018-00303

Chủ đơn: Viện Di truyền Nông nghiệp

Tác giả sáng chế: Lê Huy Hàm, Vũ Anh Thu, Nguyễn Anh Vũ, Tống Thị Hường, Nguyễn Văn Đồng

Tóm tắt: Sáng chế đề cập đến quy trình tạo mô sẹo phôi hóa (FEC - Friable Embryogenic Callus) hai giống sản thương mại của Việt Nam là KM94 (KU50) và NA1, các bước bao gồm: (1) Tạo vật liệu sạch, (2) Tạo chồi nách, (3) Tạo mô sẹo và phôi soma, (4) Tạo mô sẹo phôi hóa và nhân mô sẹo phôi hóa (FEC). Quy trình công nghệ theo sáng chế tạo đã tạo được nguồn mô sẹo phôi hóa làm nguyên liệu trong các giải pháp công nghệ nhân giống vô tính sạch bệnh ở quy mô công nghiệp, chọn dòng tế bào và chuyển gen, từ đó chọn tạo giống sản mới có năng suất, chất lượng cao, có khả năng chống chịu tốt với các điều kiện bất lợi của môi trường.

2.2 Một số công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực

2.2.1 Ứng dụng công nghệ microRNA tạo cây trồng kháng tuyến trùng ký sinh thực vật

Tác giả: PGS.TS. Nguyễn Vũ Phong - Khoa Khoa học Sinh học (Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM).

Nội dung: MicroRNA (miRNA) là một loại RNA nhỏ, dài 21-24 nucleotide không mã hóa có chức năng chủ yếu là điều khiển âm sau phiên mã vì cặp base có trình tự bổ sung gần như hoàn toàn với mRNA đích (*Bartel, 2004*). Cơ chế miRNA có nhiều điểm tương đồng với cơ chế siRNA. Trong tế bào sinh vật, khi những phân tử miRNA tiền thân (gọi là pre-miRNAs) được tạo ra trong nhân qua quá trình phiên mã từ gene, pre-miRNAs được cắt gọt bởi một enzyme có trong nhân gọi là Drosha để tạo thành những sợi pre-miRNAs. Các pre-miRNAs sau đó được di chuyển ra ngoài tế bào chất và tương tác với enzyme Dicer tạo thành miRNA, kế tiếp là phức hệ RISC. Ở thực vật,

miRNA được tạo thành nhờ Dicer, phần lớn chỉ xảy ra ở nhân, và có một protein liên kết dsRNA đặc hiệu là HYL1. miRNA thực vật có gắn kết với trình tự mã hóa và vùng 5' UTR của mRNA (*Sunkar và Zhu, 2004*). Điểm đáng chú ý, ở thực vật miRNA ức chế biểu hiện mRNA chủ yếu qua sự tiêu hủy mRNA, trong khi đó, ở động vật, miRNA can thiệp chủ yếu bằng cách ức chế quá trình dịch mã của mRNA (*Bartel, 2004*). Độ tương đồng trong trình tự của miRNA với mRNA trong phức hệ RISC sẽ quyết định mRNA sẽ bị cắt và tiêu hủy làm bất hoạt quá trình dịch mã của mRNA. Nếu trình tự của miRNA giống hệt với trình tự của mRNA, mRNA sẽ bị tiêu hủy. Nếu trình tự của miRNA tính từ đầu 5' chỉ cần tương đồng tối thiểu với mRNA từ nucleotide vị trí số 2 đến số 8 thì cơ chế miRNA sẽ kích hoạt, tức là chỉ chặn đứng sự dịch mã mà không làm tiêu hủy mRNA (*Denli và cs, 2004*). Phần lớn miRNA thực vật điều khiển gene đích của chúng bằng cách cắt mRNA trực tiếp ở vùng mã hoá (*Bartel, 2003; Bartel và cs, 2004; Dugas và Bartel, 2004*). Một vài miRNA thực vật được chứng minh là mấu chốt trong sự phát triển lá và ra hoa thông qua điều hòa sự biểu hiện của các nhân tố phiên mã liên quan (*Bartel và cs, 2003; Reinhart và cs, 2002*). Khác với nhân tố phiên mã, miRNA có thể nhắm tới một giới hạn phiên mã rộng (*Adai và cs, 2007*). Biểu hiện của chúng đã chứng tỏ chúng có vai trò quy định sự phát triển theo hướng đặc hiệu mô hoặc phản ứng với một áp lực môi trường (*Reinhart và cs, 2002; Sunkar và Zhu, 2004*). Các kiểu biểu hiện khác nhau và sự phong phú tiềm năng gene đích mRNA gợi ý rằng miRNA có thể điều khiển nhiều quá trình lý sinh và phát triển, có thể giữ vai trò trực tiếp trong sự di chuyển từ tế bào này sang tế bào khác ở thực vật (*Dugas và Bartel, 2004*).

Công nghệ RNA can thiệp (RNA interference) do Fire và cộng sự tìm ra năm 1998 đã cho thấy RNA sợi đôi có khả năng làm bất hoạt sự biểu hiện gen, từ đó ức chế sự gây hại của tuyến trùng. Năm 1993, Ambros và Ruvku phát hiện cơ chế điều hòa biểu hiện gen trong tế bào thực vật được quyết định bởi các MicroRNA. Đây chính là tiền đề giúp các nhà nghiên cứu ứng dụng công nghệ RNA cải tiến di truyền của các loại thực vật, trong đó, phương pháp làm câm lặng gen thông qua ký chủ (RNAi) đã được Huang và cộng sự nghiên cứu phát triển từ những năm 2000. Theo đó, khi bị truyền dsRNAs/siRNAs, tuyến trùng sẽ bị giảm khả năng kí sinh, khả năng sinh sản và giảm độc tính, nhờ đó, cây trồng ít bị tuyến trùng tấn công. Các dsRNAs có thể được tuyến trùng hấp thụ trực tiếp hoặc thông qua cây chủ.

Phương pháp sử dụng microRNA: Các microRNA (miRNA) được báo cáo lần đầu tiên trước khi hiện tượng RNAi được mô tả vào năm 1993 bởi hai nhóm nghiên cứu trên

C. elegans. Trong các nghiên cứu, sự biểu hiện của gene Lin-4 làm giảm lượng protein LIN-14 ở ấu trùng tuổi 1 (J1). Điều này là do sự bắt cặp bổ sung của sợi RNA lin-4 với vùng 3' không dịch mã (UTR) của lin-14 tạo sợi RNA đôi làm giảm sự dịch mã của lin-14 (Wightman và cs, 1993). Cùng thời gian này, Lee và đồng nghiệp xác định hai phân tử RNA của lin-4 có kích thước khoảng 22 và 61 nu có tính bắt cặp bổ sung với một yếu tố có trình tự lặp lại trong vùng 3'UTR thuộc mRNA lin-14. Điều này gợi ý rằng lin-4 điều hòa sự dịch mã của lin-14 thông qua tương tác RNA antisense-RNA (Lee và cs, 1993). Các RNA nhỏ được đặt tên là small temporal RNA (stRNAs), và được định nghĩa lại là miRNA từ năm 2001 (Lau và cs, 2001; Lee and Ambros, 2001; Lagos-Quintana và cs, 2001). Cho đến nay, miRNA đã được tìm thấy trong hầu hết các sinh vật nhân chuẩn, từ tuyến trùng sống tự do như *C. elegans* và tuyến trùng ký sinh thực vật (*Meloidogyne spp*, *Heterodera spp...*) (Huang và cs, 2010; Li và cs, 2012) đến sinh vật bậc cao như côn trùng (*Drosophila melanogaster*) (Lagos-Quintana và cs, 2001), thực vật (cây *Arabidopsis thaliana*) (Reinhart và cs, 2002) và con người (John và cs, 2004). Cơ sở dữ liệu Mirbase cập nhật gần đây nhất chứa 24.521 thư mục đại diện cho phân tử tiền thân miRNA có cấu trúc kẹp tóc, biểu hiện 30.424 miRNA trưởng thành của 206 loài. Các miRNA đã được phân lập từ nhiều loại mô cũng như các quá trình sinh học, đóng vai trò quan trọng trong stress sinh học hoặc phi sinh học và trong sự phát triển ung thư. Sau phát hiện và định nghĩa miRNA, rất nhanh chóng các miRNA nhân tạo (amiRNA) được thiết kế và đã chứng minh làm suy giảm hiệu quả mRNA cùng nguồn gốc (Zeng và cs, 2002; McManus và cs, 2002; Boden và cs, 2004). Từ đó, giới thiệu một công nghệ tiềm năng dùng nghiên cứu chức năng của gene quan tâm. Bên cạnh đó, công nghệ này có thể được sử dụng để bất hoạt các phân tử RNA không mong muốn của virus hoặc tế bào ung thư. Các amiRNA được thiết kế bằng cách thay thế trình tự miRNA trong phân tử tiền thân (miRNA precursor, pre-miRNA) bằng trình tự mong muốn có khả năng bất hoạt mRNA liên quan. Tiếp theo, phân tử tiền thân với amiRNA được đặt dưới sự điều khiển của một promoter và một terminator. Tiếp đó phân tử tái tổ hợp này được chuyển nạp vào tế bào cây chủ để kiểm tra hoạt động của amiRNA. Người ta thấy rằng amiRNA tấn công mRNA với mức độ từ bằng hoặc hiệu quả hơn siRNAs (Zeng và cs, 2002; Boden và cs, 2004). Có rất nhiều nghiên cứu báo cáo sử dụng công nghệ amiRNA để bất hoạt gene nội sinh cũng như các gene ngoại sinh ở côn trùng, thực vật, động vật và các dòng tế bào con người (Zeng và cs, 2002; McManus và cs, 2002; Boden và cs, 2004; Tsuda và cs, 2006; Schwab và cs, 2006; Alvarez và cs, 2006; Niu và cs, 2006; Qu và cs, 2007; Lo và cs, 2007;

McBride và cs, 2008; Warthmann và cs, 2008; Khraiwesh và cs, 2008; Duan và cs, 2008; Boudreau và cs, 2009; Hu và cs, 2009; Baek và cs, 2010; Yadava và cs, 2010; Yadava và Mukherjee, 2012). Melito và đồng nghiệp (2010) đã báo cáo lần đầu tiên việc sử dụng amiRNA làm giảm biểu hiện gene LRR-kinase từ locus Rhg1 của cây đậu nành. Trong hai năm gần đây, có nhiều nghiên cứu về miRNA ở đậu nành đã được công bố. Những kết quả này rất hữu ích cho việc thiết kế amiRNAs làm bất hoạt gene ở đậu nành và tuyến trùng ký sinh đậu nành do tính đặc hiệu của nó.

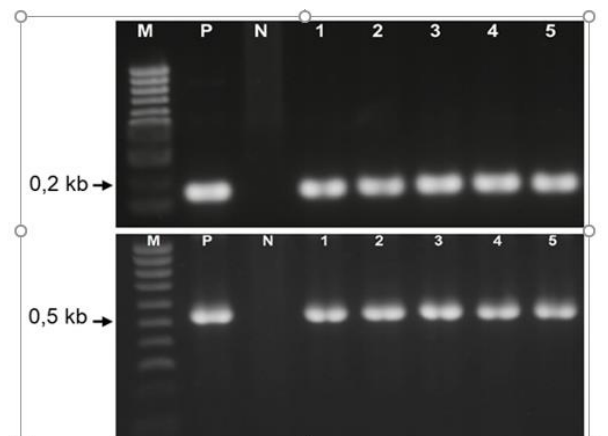
Tại Việt Nam, công nghệ RNAi đã được tác giả Lê Trần Bình nghiên cứu từ năm 2007-2008 với đề tài "*Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật RNAi trong tạo giống cây trồng chuyển gene kháng bệnh virus*". Các nghiên cứu của Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM về công nghệ RNAi chủ yếu được thực hiện trên cây lúa và cây đậu nành, với mục tiêu chứng minh vai trò của các effector và khả năng của công nghệ RNAi để kiểm soát tuyến trùng. Một số nội dung nghiên cứu cụ thể đã được thực hiện như sau: nghiên cứu sử dụng công nghệ RNAi bất hoạt gene của tuyến trùng ở Việt Nam, được thực hiện trên *Meloidogyne graminicola* ký sinh cây lúa (2016-2020), kết quả đã tạo được cây lúa kháng trên 50% tuyến trùng; nghiên cứu sử dụng công nghệ RNAi bất hoạt gene của tuyến trùng ở Việt Nam được thực hiện trên *Meloidogyne incognita* gây hại cây đậu nành (2017-2020), đã tạo được cây đậu nành kháng tuyến trùng như kỳ vọng.



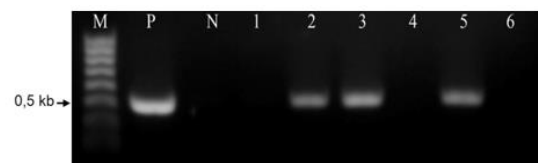
Cây đậu nành giả định chuyển gene trên môi trường chọn lọc sau 14 ngày



Cây đậu nành giả định chuyển gene trên môi trường cảm ứng vượt chồi sau 14 ngày



PCR gene golgi84 (bên trên) và hptII (bên dưới) (1, 2, 3, 4, 5): chồi giả định chuyển gene T0.



PCR gene *hptII* ở các cây thế hệ T1.

Hình 2.1 Tạo cây đậu nành mang cấu trúc amiRNA

Các ưu điểm chính của công nghệ: RNAi cho phép nhắm vào các gen cụ thể trong tuyến trùng, giảm thiểu tác dụng phụ ngoài ý muốn đối với các sinh vật không phải mục tiêu; Giảm phụ thuộc vào hóa chất: RNAi có thể giảm hoặc loại bỏ sự cần thiết của các loại thuốc trừ sâu hóa học, vốn có thể gây hại cho môi trường và sức khỏe con người; Vì RNAi nhắm vào các gen cụ thể trong tuyến trùng, nó có thể mang lại một giải pháp bền vững dài hạn so với các phương pháp kiểm soát truyền thống, vốn có thể dẫn đến sự kháng thuốc theo thời gian.

Tình trạng công nghệ: Ứng dụng công nghệ microRNA tạo cây trồng kháng tuyến trùng ở Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM hiện nay đang trong giai đoạn nghiên cứu tại phòng thí nghiệm. Các nghiên cứu đã bắt đầu thử nghiệm trên một số giống cây trồng chủ lực như lúa, đậu nành. Công nghệ sẵn sàng chuyển giao, cho nghiên cứu và hoàn thiện quy trình trên các loại cây trồng chủ lực kháng tuyến trùng ký sinh thực vật.

Tình trạng sở hữu trí tuệ: Công nghệ sử dụng microRNA tạo cây trồng kháng tuyến trùng đã được công bố trong các bài báo khoa học và kết quả nghiệm thu của đề tài nghiên cứu khoa học Sở Khoa học và Công nghệ TP.HCM và Quỹ Phát triển KH&CN Quốc gia NAFOSTED.

Các yêu cầu/điều kiện cần có để tiếp nhận/ứng dụng công nghệ:

- Nhân lực: Cần có nhân lực có chuyên môn trong sinh học phân tử, di truyền học cây trồng và nghiên cứu tuyến trùng để phát triển và áp dụng các chiến lược RNAi hiệu quả.

- Cơ sở hạ tầng và thiết bị: Việc ứng dụng công nghệ RNAi trong nông nghiệp đòi hỏi các phòng thí nghiệm hiện đại để chỉnh sửa gen, nhà kính thử nghiệm (cây trồng biến đổi gen hoặc chế phẩm phun RNAi).

- Pháp lý: Quy định nghiêm ngặt về quản lý cây trồng mang cấu trúc RNAi.

Khả năng hợp tác:

- Hợp tác nghiên cứu: Cần hợp tác với các viện nghiên cứu và các trường đại học để hoàn thiện công nghệ, từ nghiên cứu cơ bản đến ứng dụng thực tiễn.

- Hợp tác khai thác công nghệ: Các đơn vị quan tâm có thể hợp tác để triển khai hoàn thiện và thử nghiệm công nghệ, đánh giá hiệu quả của công nghệ.

- Chuyển giao công nghệ: Tìm kiếm đối tác để chuyển giao công nghệ microRNA cho các đơn vị liên quan, đặc biệt là trong việc tạo giống cây trồng mới kháng tuyến trùng.

2.2.2 Ứng dụng công nghệ sinh học cho chọn tạo giống cây trồng thông qua khai thác nguồn dữ liệu lớn (Big data)

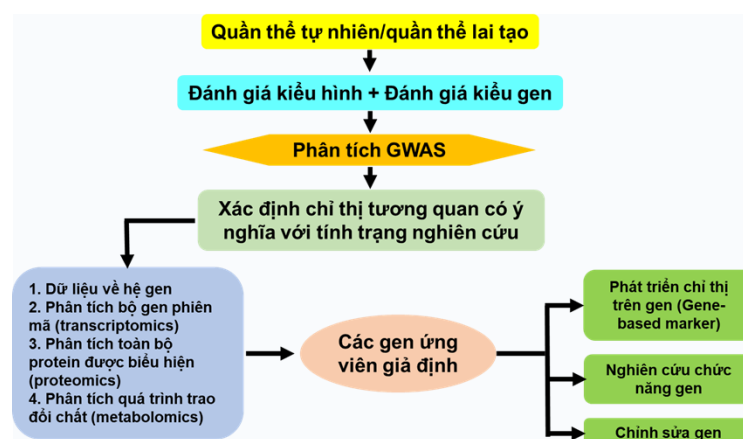
Tác giả: TS. Đỗ Đức Tuyến, Phó Bộ môn Di truyền và chọn giống (Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long)

Nội dung: Dữ liệu lớn thường được nhắc đến và sử dụng trong chọn tạo giống là các bộ chỉ thị SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Các bộ dữ liệu có thể được tạo ra không thông qua giải trình tự hoặc thông qua giải trình tự toàn bộ hệ gen. Thông thường dữ liệu lớn xây dựng không qua giải trình tự được thực hiện qua công nghệ SNP chip array (Fixed array) như Illumina Infinium iSelect HD hay Affymetrix Axiom cho phép xây dựng bộ dữ liệu lên tới 700.000 chỉ thị SNP. Xây dựng dữ liệu lớn qua giải trình tự thường là giải trình tự thế hệ thứ hai (Next-generation sequencing), có thể kể đến như RE-based GBS hay Amplicon sequencing cho phép xây dựng dữ liệu thường được gọi là phân tích kiểu gen thông qua giải trình tự (Genotyping by sequencing). Bên cạnh đó dữ liệu lớn (Các bộ chỉ thị SNP) cũng có thể được xây dựng từ các dự án giải trình tự toàn bộ hệ gen của các bộ giống chuẩn (Core collection) như 3.000 mẫu giống lúa (Wang, Mauleon et al. 2018) hay 1.000 mẫu giống đậu nành (Bayer, Valliyodan et al. 2022).

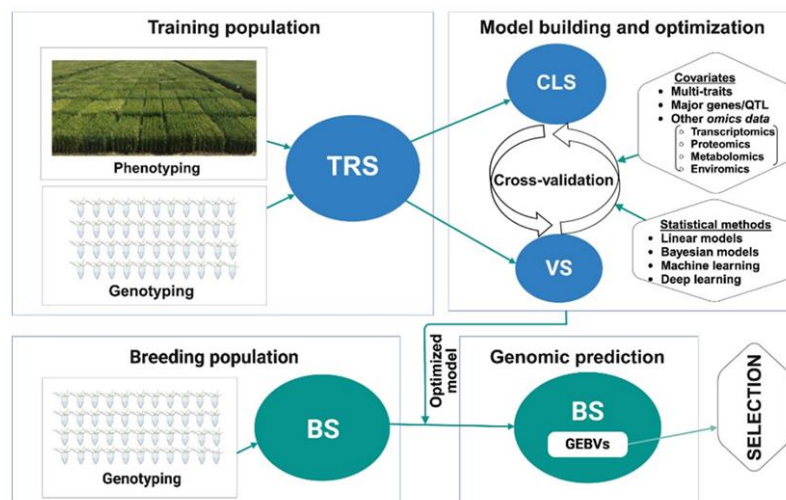
Trên thế giới đã có nhiều cơ sở dữ liệu lớn được xây dựng và khai thác như bộ dữ liệu gồm 7.000 chỉ thị SNP của 544 mẫu giống lúa (Morales, Singh et al. 2020), bộ dữ liệu gồm 700.000 chỉ thị SNP của 1954 mẫu giống lúa (McCouch, Wright et al. 2016), nhiều bộ chỉ thị SNP được xây dựng trên cơ sở giải trình tự 3.000 mẫu giống lúa (Wang, Mauleon et al. 2018). Đối với cây trồng khác như đậu nành bộ 42.509 chỉ thị SNP của hơn 20.000 mẫu giống đậu nành đã được khai thác trong nhiều nghiên cứu (Song, Jenkins et al. 2016) hay 1.000 mẫu giống đã được giải trình tự toàn bộ hệ gen và từ đó đã có nhiều bộ dữ liệu chỉ thị SNP được xây dựng (Bayer, Valliyodan et al. 2022). Bên cạnh đó các công nghệ mới như giải trình tự thế hệ thứ hai (Next-generation sequencing) hay SNP chip array cũng cho phép xây dựng các bộ dữ liệu lớn mới trên các bộ mẫu giống nghiên cứu một cách dễ dàng.

Với sự phát triển của các bộ dữ liệu lớn cũng như công cụ để xây dựng bộ dữ liệu lớn đã đưa đến nhiều tiến bộ và ứng dụng trong chọn tạo giống cây trồng, phân tích GWAS và chọn giống dựa vào toàn bộ hệ gen là hai trong số đó. Phân tích GWAS (Hình 1) là một phương pháp thường được hiểu là phân tích tương quan giữa tính trạng nghiên cứu với chỉ thị phân tử của toàn bộ hệ gen. Bản chất của GWAS là lập bản đồ tương quan của các chỉ thị phân tử với tính trạng nghiên cứu tương tự như lập bản đồ QTL. Tuy nhiên,

GWAS được thực hiện với quần thể tự nhiên không cần phải xây dựng qua lai tạo. Điều này đặc biệt hiệu quả đối với sinh vật không thể tạo được đủ số lượng con cái từ một cặp hoặc một vài bố mẹ hay với sinh vật mất rất nhiều thời gian để tạo quần thể lập bản đồ thông qua lai tạo như cây rừng chẳng hạn. Vì sử dụng quần thể tự nhiên nên có thể nhiều alen trong tự nhiên được xác định. Với ưu thế sử dụng dữ liệu lớn nên GWAS cho phép dự đoán các gen ứng viên liên quan đến tính trạng nghiên cứu thay vì QTL/vùng QTL. Điều này rất có ý nghĩa vì ngoài sử dụng trực tiếp các chỉ thị tương quan có ý nghĩa cho chọn giống nhờ chỉ thị phân tử còn cung cấp cơ sở cho nghiên cứu chức năng gen hay chỉnh sửa gen. Đối với chọn giống dựa vào toàn bộ hệ gen, việc sử dụng giá trị chọn giống thông qua ước lượng toàn bộ hệ gen (Genetic Estimated Breeding Value - GEBV) được xem là hướng hiệu quả và được ứng dụng rộng rãi hiện nay. Phương pháp cho phép dự đoán kiểu gen mong muốn không cần đánh giá kiểu hình mà chỉ dựa vào kiểu gen thông qua model đã được xây dựng trên quần thể thử nghiệm (Hình 2).



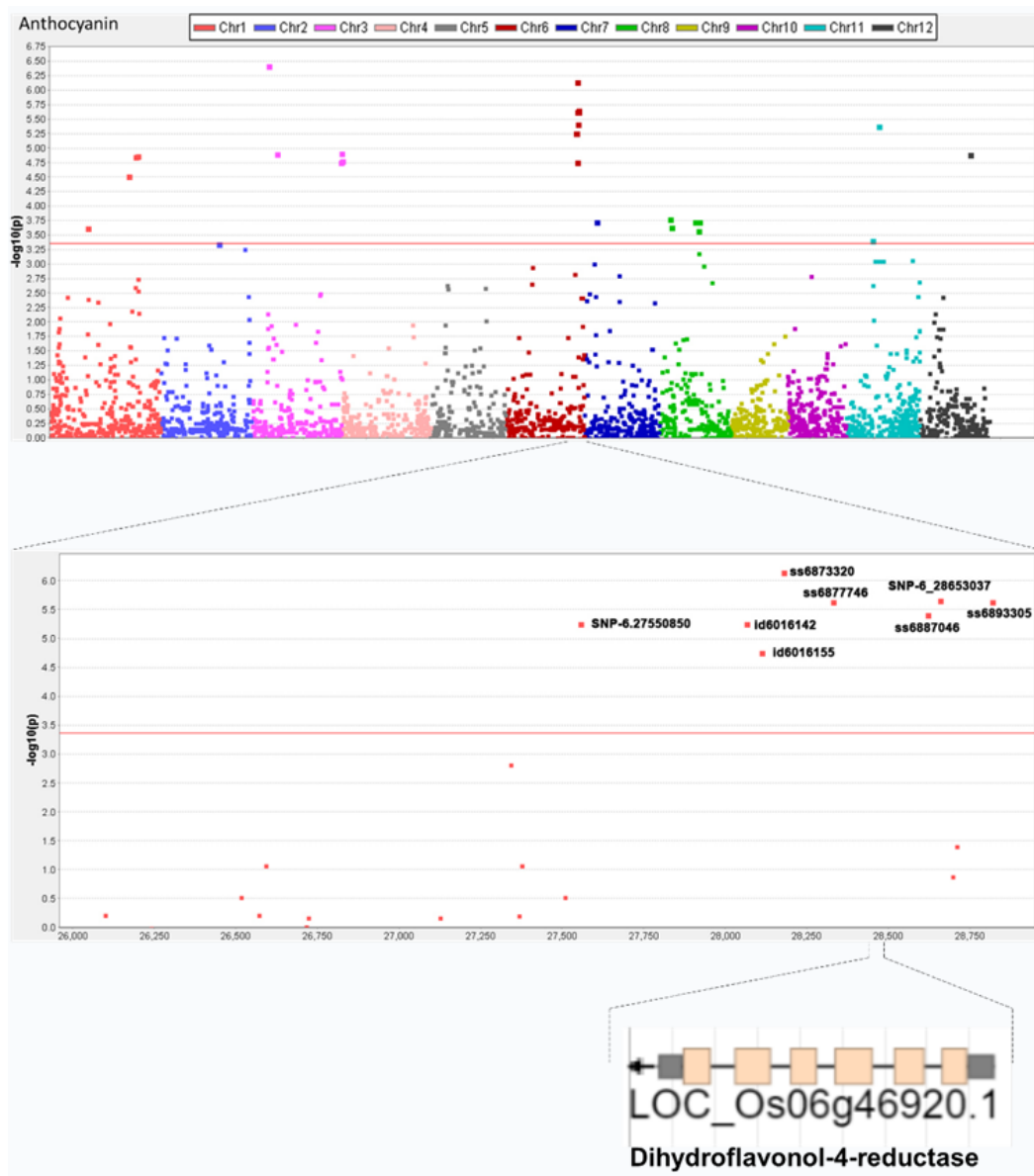
Hình 2.2 Quy trình phân tích GWAS



Hình 2.3 Quy trình chọn giống dựa vào phân tích toàn bộ hệ gen (Alemu, Åstrand et al. 2024)

Dữ liệu kiểu gen sử dụng cho chọn giống dựa vào toàn bộ hệ gen được xây dựng trên giải trình tự toàn bộ hệ gen hoặc bộ chỉ thị SNP rất lớn bao trùm cả hệ gen nên cho phép đánh giá sự đóng góp của cả những gen chính và gen phụ liên quan tới tính trạng chọn lọc thay vì tập trung vào một số ít các gen như các phương pháp trước đây. Đây được xem là thế mạnh của phương pháp chọn giống mới này và hứa hẹn sẽ mang lại hiệu quả cao đối với chọn tạo giống. Tuy nhiên, việc ứng dụng phương pháp này cho chọn giống ở Việt Nam còn rất khiêm tốn.

Lúa màu được xem là giàu dinh dưỡng hơn lúa trắng thông thường nhờ chứa nhiều hơn các hoạt chất sinh học cũng như các thành phần dinh dưỡng khác. Các thành phần có thể kể đến như phytosterols, carotenoids, vitamins, vi chất dinh dưỡng, và flavonoids (Shao, Hu et al. 2018, Mbanjo, Kretzschmar et al. 2020). Dựa vào sự tích lũy khác nhau các thành phần flavonoid mà lúa màu được chia thành hai nhóm chính là lúa đen và lúa đỏ với tỉ lệ khác nhau giữa anthocyanins và proanthocyanidins (Min, McClung et al. 2011). Anthocyanins là một dạng flavonoid trong lúa màu là chất chống oxy hóa mạnh nên rất tốt cho sức khỏe con người (Shao, Hu et al. 2018, Yheni Dwiningsih and Al-Kahtani 2022). Lúa đen của Việt Nam rất đa dạng đã được thu thập đánh giá và lưu trữ nên việc lập bản đồ dựa vào toàn bộ hệ gen và dự đoán các gen ứng viên liên quan đến thành phần anthocyanin và flavonoid rất có ý nghĩa trong chọn tạo và phát triển các giống lúa màu. Một bộ gồm 94 mẫu giống lúa đen được lấy từ Trung tâm Tài nguyên Thực vật (Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Việt Nam) được sử dụng để phân tích hàm lượng anthocyanin và flavonoid trong hạt, đồng thời xây dựng bộ chỉ thị SNP bằng 7K SNP chip array để phân tích GWAS. Kết quả phân tích cho thấy 32 chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa với hàm lượng anthocyanin định vị trên các nhiễm sắc thể (NST) 1, 2, 3, 6, 7, 8, 11, 12 và 16 chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa với hàm lượng flavonoid định vị trên các NST. 1, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12. Trong tổng số 72 gen ứng viên định vị gần với các chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa thì 44 gen được dự đoán là liên quan đến sinh tổng hợp anthocyanin và flavonoid. Đáng chú ý trong đó có 20 gen ứng viên chưa được công bố trong những nghiên cứu trước đây có thể kể đến như LOC_Os03g62300.1 mã hóa cho chalcone isomerase, LOC_Os06g41800.1 mã hóa cho dihydroflavonol reductase và LOC_Os06g43090.1 mã hóa cho yếu tố phiên MYB là những gen cấu trúc cũng như gen điều khiển chính trong sinh tổng hợp anthocyanin. Các chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa và các gen ứng viên này rất có ý nghĩa cho chọn giống lúa giàu anthocyanin nhờ chỉ thị phân tử cũng như nghiên cứu chức năng gen liên quan đến sinh tổng hợp anthocyanin (Pham, Do et al. 2023).



Hình 2.4 Biểu đồ Manhattan thể hiện tương quan giữa các chỉ thị SNP với hàm lượng anthocyanin trên toàn bộ 12 NST; Các chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa với hàm lượng anthocyanin và gen ứng viên trên NST số 6.

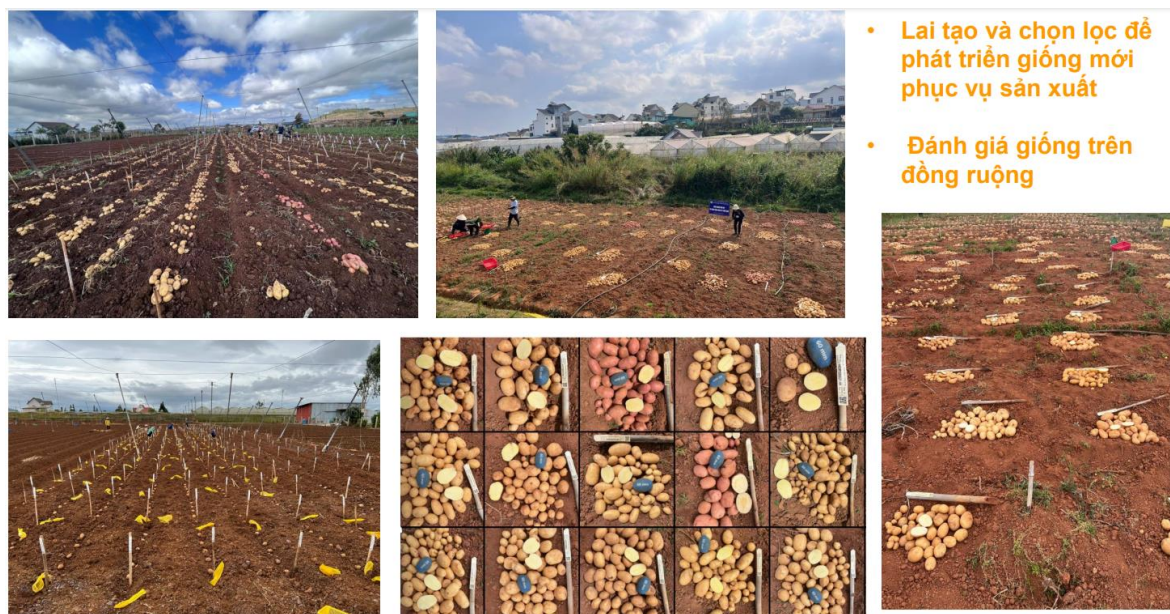
Nhóm nghiên cứu Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long đã hợp tác với các thành viên Trung tâm Tài nguyên thực vật (PRC), Viện Dược liệu Quốc gia (NIMM) và GS.TS. Robert James Henry (Đại học Queensland, Australia) để thực hiện nghiên cứu về lúa màu dựa trên các chỉ thị phân tử SNP. Kết quả phân tích cho thấy 32 chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa với hàm lượng anthocyanin và 16 chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa với hàm lượng flavonoid. Các chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa và các gen ứng viên này rất có ý nghĩa cho chọn giống lúa giàu anthocyanin nhờ chỉ thị phân tử cũng như nghiên cứu chức năng gen liên quan đến sinh tổng hợp anthocyanin.

2.2.3 Chương trình chọn tạo giống khoai tây ứng dụng công nghệ sinh học tại vùng Tây Nguyên, Việt Nam

Tác giả: ThS. Đinh Thị Hồng Nhung, Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa (Viện Khoa học Nông nghiệp miền Nam).

Nội dung: Ở Việt Nam, khoai tây được trồng chủ yếu ở Đồng bằng sông Hồng và Lâm Đồng. Hầu hết giống khoai tây từ hệ thống sản xuất giống không chính thức có hiệu suất kém. Do đó, để đảm bảo năng suất chất lượng và nhu cầu sản xuất, phần lớn khoai tây giống ở nước ta được nhập khẩu.

Tây Nguyên, với khí hậu ôn hòa và đất đai phong phú, là vùng tiềm năng lớn để trồng khoai tây. Chương trình ứng dụng công nghệ sinh học vào chọn tạo giống khoai tây từ năm 2016 đến nay với mục tiêu giúp bộ giống khoai tây ngày càng phong phú với nhiều giống ưu việt về năng suất, chất lượng cho ăn tươi và chế biến, có khả năng chống chịu bệnh hại và các điều kiện ngoại cảnh bất thuận.



Hình 2.5. Lai tạo chọn lọc giống khoai tây tại Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa

Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tại Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa đã cho phép nhân giống khoai tây trong môi trường kiểm soát chặt chẽ, loại bỏ hoàn toàn các mầm bệnh như bệnh virus, bệnh héo xanh vi khuẩn (*Ralstonia solanacearum*) hoặc bệnh mốc sương (*Phytophthora infestans*). Từ đó, tạo ra giống khoai tây sạch bệnh, có năng suất và chất lượng tốt. Một số giống khoai tây được Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa nghiên cứu phát triển thành công là: KT1, KT4, KT5, KT6, TK 13.3, TK13.2 và TK15.80.

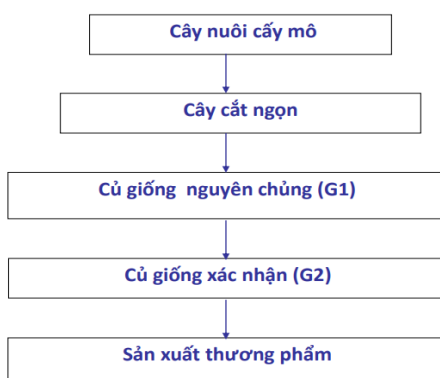
Giống khoai tây KT1

Thời gian sinh trưởng: 85-90 ngày
 Dạng củ: oval, ruột vàng, mắt củ nông
 hàm lượng chất khô: 21-23%
 Năng suất: 25-30 tấn/ha
 Kháng virus Y
 Phục vụ ăn tươi và chế biến



Hình 2.6. Giống KT1- kết quả chọn tạo giống tại Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa đã xây dựng quy trình sản xuất giống khoai tây đồng bộ từ phòng thí nghiệm đến cơ sở sản xuất, cho phép nhân giống một lượng lớn cây đồng đều trong thời gian ngắn với chất lượng đảm bảo, từ đó giảm thiểu chi phí và thời gian sản xuất. Hệ thống này đã được áp dụng thành công tại một số tỉnh, đáp ứng nhu cầu tiêu thụ trong nước và xuất khẩu.

HỆ THỐNG SẢN XUẤT GIỐNG ĐANG ĐƯỢC ÁP DỤNG TẠI LÂM ĐỒNG



Hình 2.7. Quy trình sản xuất giống tại Lâm Đồng

Hiện tại các quy trình sản xuất giống khoai tây và chuyển giao công nghệ đã ổn định. Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa mong muốn có thể thực hiện các chương trình hợp tác chọn tạo giống trong nước và quốc tế, cũng như tổ chức liên kết phát triển đầu ra cho các sản phẩm nghiên cứu.

PHẦN 3 - KẾT LUẬN

3.1 Về xu hướng phát triển công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực

Sáng chế đầu tiên liên quan đến biến đổi gen trên ngũ cốc được các tác giả Robert L. Erwin và Ernest T. Hubbard đăng ký tại Mỹ vào ngày 30/9/1982 và được công bố bảo hộ ngày 14/4/1983. Giai đoạn 1982-1994: số lượng công bố đơn đăng ký bảo hộ khá ít (dưới 100 sáng chế/năm). Đây là thời kỳ đầu ứng dụng CNSH vào chọn tạo giống cây lương thực. Giai đoạn 1995-2009: các nghiên cứu CNSH có tốc độ tăng trưởng đạt mức 300 đơn đăng ký sáng chế vào năm 2009. Từ năm 2010-2023: sáng chế về CNSH phục vụ giống cây lương thực có xu hướng tăng trưởng nhanh. Năm 2019 số đơn đăng ký sáng chế lần đầu cán mức 1.000 đơn và đến năm 2023 đạt hơn 1.300 đơn. Xét theo các quốc gia bảo hộ trên thế giới, Trung Quốc là nước bảo hộ sáng chế về CNSH phục vụ công tác tạo giống lương thực nhiều nhất trên thế giới. Kế đến là Mỹ, Hàn Quốc, Nhật Bản,...

Theo hướng nghiên cứu về Kỹ thuật nuôi cấy mô, các nhóm Nuôi cấy mô phân sinh, Thiết bị hỗ trợ nuôi cấy mô (thiết bị, dịch nuôi cấy, môi trường nuôi cấy) và Công nghệ nuôi cấy mô sẹo là 3 nhóm có nhiều đơn đăng ký bảo hộ sáng chế nhất.

Theo hướng nghiên cứu về Kỹ thuật di truyền ứng dụng trong công tác tạo giống cây lương thực, công nghệ TALEN, BE, kỹ thuật chuyển gen bằng vi khuẩn được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất, chiếm hơn 50%. Ngoài ra, một số kỹ thuật di truyền khác như: vector chuyển gen, CRISPR,... cũng được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Từ năm 2012, RISPR/Cas9 và nhiều kỹ thuật liên quan đã trở thành công cụ chỉnh sửa bộ gen thành công nhất thế giới. Ưu điểm chính của CRISPR/Cas9 so với công nghệ TALEN là việc sử dụng nó đơn giản hơn, do đó cho phép các phòng thí nghiệm trên toàn thế giới áp dụng chỉnh sửa bộ gen như một công nghệ thương mại.

Theo hướng nghiên cứu sử dụng kỹ thuật Chỉ thị phân tử vào công tác chọn tạo giống cây lương thực, công nghệ SNP (đa hình nucleotide đơn) có số lượng đăng ký sáng chế nhiều nhất, kế đến là công nghệ SSR (chuỗi lặp đơn giản), công nghệ QTL (phân tích vị trí đặc điểm định lượng) cũng được nghiên cứu và ứng dụng nhiều để tạo giống cây lương thực.

Xem xét các hướng nghiên cứu ứng dụng CNSH trong chọn tạo các giống cây lương thực (gạo, đậu, ngô, lúa mì, khoai tây, yến mạch, lúa mạch, hạt kê, cao lương,...), việc chọn tạo giống lúa gạo được đăng ký bảo hộ nhiều nhất, kể đến là nhóm các loại đậu (đậu nành, đậu phộng...). Các giống ngô nhận được sự quan tâm thứ ba từ các nhà khoa học.

Xem xét các hướng nghiên cứu ứng dụng CNSH trong chọn tạo giống cây lương thực theo mục đích cụ thể, các nghiên cứu nhằm gia tăng năng suất, có các gen chịu hạn, chịu rét, kháng sâu bệnh, thuốc diệt cỏ,... được các nhà nghiên cứu quan tâm hàng đầu. Trong đó, nghiên cứu các giống tăng năng suất được đăng ký bảo hộ sáng chế nhiều nhất. Đây cũng là biện pháp nhằm giải quyết phần nào tình trạng thiếu đất canh tác và biến đổi khí hậu nghiêm trọng ngày nay. Các nghiên cứu tạo giống lương thực mang gen kháng bệnh, virus, nấm (giúp giảm thiểu tình trạng sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và dư lượng thuốc trong thực vật) xếp thứ hai về số đơn đăng ký bảo hộ sáng chế đã được nộp trên toàn thế giới từ năm 1982. Xếp thứ ba là nhóm cây lương thực có khả năng kháng thuốc diệt cỏ.

Top 10 đơn vị sở hữu nhiều sáng chế nhất về CNSH phục vụ công tác chọn tạo giống cây lương thực trên thế giới hiện nay là 2 doanh nghiệp của Mỹ (Công ty Pioneer Hi-Bred International, Công ty Monsanto Technology) và 8 viện nghiên cứu, trường đại học của Trung Quốc (Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Huazhong Agricultural University, China Agricultural University, Nanjing Agricultural University,...) trong đó, đơn vị sở hữu nhiều sáng chế nhất là công ty Pioneer Hi-Bred International của Mỹ.

3.2 Tình hình nghiên cứu, ứng dụng CNSH trong chọn tạo giống cây lương thực tại Việt Nam

CNSH ứng dụng trong chọn tạo giống cây lương thực giúp gia tăng sản lượng lương thực, tăng hương vị, giá trị dinh dưỡng; giảm thiểu được dư lượng thuốc trừ sâu, thuốc tăng trưởng trong nông sản nên vừa đảm bảo an ninh lương thực mà còn an toàn cho người dùng. Tuy nhiên việc nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo giống cây lương thực tại Việt Nam vẫn còn khá hạn chế.

Theo cơ sở dữ liệu của Cục Sở hữu trí tuệ, tính đến tháng 12/2024, có 54 tài liệu sáng chế liên quan đến CNSH phục vụ công tác tạo giống cây lương thực đã được đăng ký bảo hộ tại Việt Nam. Các sáng chế/giải pháp hữu ích này có nguồn gốc từ Mỹ (19)

Trung Quốc (8), Thụy Sĩ (5) và một số quốc gia khác. Riêng Việt Nam, có 11 sáng chế/giải pháp hữu ích với chủ đơn là các viện nghiên cứu, trường đại học (Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Trường Đại học Cần Thơ, Viện Di truyền Nông nghiệp, Viện Công nghệ sinh học, Viện Nghiên cứu Ngô,...)

Bên cạnh các sáng chế, còn có khá nhiều công trình nghiên cứu của các nhà khoa học tại các viện nghiên cứu, các trường đại học trong nước. Trong những năm tới, CNSH phục vụ công tác tạo giống cây lương thực được dự báo sẽ còn tiếp tục được nghiên cứu và ứng dụng nhiều hơn.

Tại Hội thảo “*Công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây lương thực*”, được Trung tâm Thông tin và Thống kê Khoa học và Công nghệ TP.HCM tổ chức vào ngày 11/12/2024, một số nội dung liên quan đến nghiên cứu, ứng dụng CNSH trong công tác chọn tạo giống cây lương thực vào thực tiễn đã được giới thiệu như sau:

- Các nhà khoa học tại Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM đã nghiên cứu ứng dụng công nghệ microRNA tạo cây trồng kháng tuyến trùng ký sinh thực vật. Ứng dụng công nghệ microRNA tạo cây trồng kháng tuyến trùng hiện nay đang ở giai đoạn nghiên cứu triển khai tại phòng thí nghiệm. Các nghiên cứu đã bắt đầu thử nghiệm trên một số giống cây trồng chủ lực như lúa, đậu nành. Công nghệ sẵn sàng chuyển giao, cho nghiên cứu và hoàn thiện quy trình trên các loại cây trồng chủ lực kháng tuyến trùng ký sinh thực vật.

Công nghệ sử dụng microRNA tạo cây trồng kháng tuyến trùng đã được công bố trong các bài báo khoa học và kết quả nghiệm thu đề tài nghiên cứu khoa học của Sở Khoa học và Công nghệ TP.HCM và Quỹ Phát triển KH&CN Quốc gia NAFOSTED.

Nhóm nghiên cứu mong muốn hợp tác với các viện nghiên cứu và các trường đại học để hoàn thiện công nghệ và ứng dụng vào thực tiễn. Các đơn vị quan tâm có thể hợp tác để triển khai hoàn thiện và thử nghiệm công nghệ, đánh giá hiệu quả của công nghệ cũng như tìm kiếm đối tác để chuyển giao công nghệ microRNA cho các đơn vị liên quan, đặc biệt là trong việc tạo giống cây trồng mới kháng tuyến trùng

- Với nghiên cứu “*Ứng dụng công nghệ sinh học cho chọn tạo giống cây trồng thông qua khai thác nguồn dữ liệu lớn (Big data)*”, Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long đã cho thấy, dữ liệu lớn thường được nhắc đến và sử dụng trong chọn tạo giống là các bộ chỉ thị SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Các bộ dữ liệu có thể được tạo ra

không thông qua giải trình tự hoặc thông qua giải trình tự toàn bộ hệ gen. Thông thường dữ liệu lớn xây dựng không qua giải trình tự được thực hiện qua công nghệ SNP chip array (Fixed array) như Illumina Infinium iSelect HD hay Affymetrix Axiom, cho phép xây dựng bộ dữ liệu lên tới 700.000 chỉ thị SNP. Xây dựng dữ liệu lớn qua giải trình tự thường là giải trình tự thế hệ thứ hai (Next-generation sequencing), có thể kể đến như RE-based GBS hay Amplicon sequencing cho phép xây dựng dữ liệu thường được gọi là phân tích kiểu gen thông qua giải trình tự (Genotyping by sequencing). Với sự phát triển của các bộ dữ liệu lớn cũng như công cụ để xây dựng bộ dữ liệu lớn đã đưa đến nhiều tiến bộ và ứng dụng trong chọn tạo giống cây trồng, phân tích GWAS và chọn giống dựa vào toàn bộ hệ gen là hai trong số đó.

Nhóm nghiên cứu Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long đã hợp tác với các thành viên Trung tâm Tài nguyên thực vật (PRC), Viện Dữ liệu Quốc gia (NIMM) và GS.TS. Robert James Henry (Đại học Queensland, Australia) để thực hiện nghiên cứu về lúa màu dựa trên các chỉ thị phân tử SNP. Kết quả phân tích cho thấy 32 chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa với hàm lượng anthocyanin và 16 chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa với hàm lượng flavonoid. Các chỉ thị SNP tương quan có ý nghĩa và các gen ứng viên này rất có ý nghĩa cho chọn giống lúa giàu anthocyanin nhờ chỉ thị phân tử cũng như nghiên cứu chức năng gen liên quan đến sinh tổng hợp anthocyanin. Nhóm mong muốn được hợp tác với các nhà nghiên cứu để nghiên cứu chuyên sâu về lúa, ứng dụng và khai thác nguồn dữ liệu Big data, nghiên cứu SNP chip.

- Với nghiên cứu "*Chương trình chọn tạo giống khoai tây ứng dụng công nghệ sinh học tại vùng Tây Nguyên, Việt Nam*", Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây, Rau và Hoa đã ứng dụng CNSH vào chọn tạo giống khoai tây từ năm 2016 đến nay, nhằm đa dạng bộ giống khoai tây có năng suất, chất lượng chất lượng cao, có khả năng chống chịu bệnh hại và các điều kiện ngoại cảnh bất thuận. Trung tâm đã ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô để nhân giống khoai tây trong môi trường kiểm soát chặt chẽ, loại bỏ hoàn toàn các mầm bệnh như bệnh virus, bệnh héo xanh vi khuẩn hoặc bệnh mốc sương. Từ đó, tạo ra giống khoai tây sạch bệnh, có năng suất và chất lượng tốt như KT1, KT4, KT5, KT6, TK 13.3, TK13.2 và TK15.80, đạt tiêu chuẩn tiêu thụ trong và ngoài nước và đã chuyển giao tại một số tỉnh thành.

Hiện tại các quy trình sản xuất giống khoai tây và chuyển giao công nghệ đã ổn định, Trung tâm mong muốn có thể thực hiện các chương trình hợp tác chọn tạo giống trong nước và quốc tế và tổ chức liên kết phát triển đầu ra cho các sản phẩm nghiên cứu.

3.3 Một số nhận xét, khuyến nghị

Nhìn chung, các sáng chế, các nghiên cứu về công nghệ sinh học phục vụ công tác tạo giống cây trồng của các nhà khoa học Việt Nam đa phần nghiêng về ứng dụng công nghệ nuôi cấy mô đã phát triển trên thế giới, các nghiên cứu về gen, chỉ thị phân tử còn hạn chế. Theo các chuyên gia, để phát triển công nghệ sinh học thực vật tại Việt Nam, cần xem xét một số yếu tố sau:

- Cần có sự hỗ trợ từ phía Chính quyền và các Bộ/Ngành liên quan đến các dự án phát triển công nghệ sinh học thực vật và các quy định pháp luật liên quan, ví dụ như quy định về việc công nhận kiểu gen ở các giống lúa,...

- Cần có nguồn nhân lực nghiên cứu chuyên sâu về công nghệ sinh học thực vật; có sự kết nối giữa các chuyên gia trong nước và quốc tế làm việc trong lĩnh vực công nghệ sinh học thực vật để mở rộng việc hợp tác, chia sẻ kinh nghiệm, chia sẻ dữ liệu, để cùng phát triển.

- Cần có những đầu tư trang bị máy móc, thiết bị hiện đại để hỗ trợ cho các công tác chuyên môn, kỹ thuật sâu về di truyền.

PHẦN PHỤ LỤC

Phụ lục 1

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SINH HỌC PHỤC VỤ CÔNG TÁC CHỌN TẠO GIỐNG CÂY LƯƠNG THỰC TẠI VIỆT NAM

STT	Tên đề tài
1	Nghiên cứu, ứng dụng kỹ thuật chiếu xạ gamma, nguồn Co-60 có hoạt độ 236 Ci, trong tạo nguồn vật liệu khởi đầu cho chọn tạo giống lúa. CNĐT: ThS. Đoàn Văn Sơn - Viện di truyền nông nghiệp (2022)
2	Nghiên cứu chọn tạo giống lúa lai hai, ba dòng năng suất cao, chất lượng tốt cho các tỉnh phía Bắc. CNĐT: TS. Lê Hùng Phong - Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm (2021)
3	Nghiên cứu chọn tạo giống lúa ngắn ngày, chất lượng cao, năng suất cao phục vụ nội tiêu và xuất khẩu. CNĐT: ThS. Trần Thị Tiệp - Công ty cổ phần Tập đoàn ThaiBinh Seed (2021)
4	Nghiên cứu ứng dụng công nghệ chỉ thị phân tử và chỉnh sửa hệ gen trong chọn tạo giống lúa năng suất, chất lượng, chống chịu sâu bệnh và bất lợi ngoại cảnh. CNĐT: ThS. Nguyễn Thị Nhung - Công ty cổ phần Tập đoàn ThaiBinh Seed (2021)
5	Nghiên cứu chọn tạo giống lúa có giá trị hàng hóa cao cho các vùng trồng lúa chính trong toàn quốc. CNĐT: PGS.TS. Trịnh Khắc Quang - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam (2020)
6	Chọn tạo giống lúa màu đặc sản và xây dựng mô hình sản xuất tại TPHCM và một số tỉnh vùng Đông Nam Bộ. CNĐT: TS Đào Minh Sô - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam (2023)
7	Nghiên cứu chọn tạo giống đậu xanh và vừng năng suất cao cho các tỉnh phía Nam. CNĐT: TS. Hồ Huy Cường - Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Duyên hải Nam trung bộ (2022)
8	Nghiên cứu tạo giống đậu tương chuyển gen kim hãm già hóa bộ lá và tăng kích thước hạt. CNĐT: PGS. TS. Trần Văn Điền - Trường Đại học Nông Lâm (2022)
9	Nghiên cứu chọn tạo giống đậu tương cho các tỉnh phía Bắc. CNĐT: PGS.TS. Trần Thị Trường - Viện cây lương thực và cây thực phẩm (2021)
10	Phân lập thiết kế gen kháng sâu tạo giống đậu tương biến đổi gen. CNĐT: PGS. TS. Nguyễn Văn Đồng - Viện di truyền nông nghiệp (2020)

11	Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống đậu tương kháng bệnh gỉ sắt (giai đoạn 2). CNĐT: TS. Nguyễn Văn Khởi - Viện cây lương thực và cây thực phẩm (2020)
12	Nghiên cứu chọn tạo giống ngô nếp, ngô đường năng suất cao, chất lượng tốt cho các tỉnh phía Bắc. CNĐT: TS. Nguyễn Thị Nhài - Viện Nghiên cứu ngô (2021)
13	Nghiên cứu phát triển nguồn vật liệu phục vụ chọn tạo giống ngô trái cây giàu chất kháng ô xy hóa anthocyanin. CNĐT: TS. Phạm Quang Tuấn - Học viện Nông nghiệp Việt Nam (2021)
14	Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử để đưa gene fea* làm tăng số hàng hạt vào các dòng ngô bố mẹ của Việt Nam phục vụ tạo giống ngô lai năng suất cao. CNĐT: ThS. Đặng Cao Cường - Công ty cổ phần Tập đoàn ThaiBinh Seed (2020)
15	Nghiên cứu chọn tạo giống ngô lai mới, ngắn ngày, năng suất cao, chống chịu tốt, thích hợp với các vùng trồng ngô tỉnh Thanh Hóa. CNĐT: TS. Lê Văn Ninh - Trường Đại học Hồng Đức (2020)
16	Nghiên cứu chọn tạo giống ngô phục vụ xuất khẩu và sản xuất trong nước. CNĐT: TS. Vương Huy Minh - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2023)
17	Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống khoai lang có hàm lượng tinh bột cao cho các tỉnh phía Bắc, giai đoạn 2. CNĐT: ThS. Nguyễn Thị Thúy Hoài - Viện cây lương thực và cây thực phẩm (2020)
18	Nghiên cứu chọn tạo giống dong riềng, khoai lang, khoai sọ năng suất cao, chất lượng tốt, chống chịu một số sâu bệnh hại chính cho các tỉnh phía Bắc. CNĐT: TS. Trịnh Văn Mỹ - TS. Trịnh Văn Mỹ (2022)
19	Nghiên cứu tạo giống khoai lang kháng bọt hà bằng công nghệ gen. CNĐT: GS.TS. Lê Trần Bình - Viện Công nghệ Sinh học (2015)
20	Nghiên cứu chọn tạo giống sắn và khoai lang cho vùng Bắc Trung Bộ. CNĐT: TS. Phạm Văn Linh - Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp Bắc Trung Bộ (2021)

Phụ lục 2

MỘT SỐ SÁNG CHẾ VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC ỨNG DỤNG CHỌN TẠO GIỐNG CÂY LƯƠNG THỰC ĐƯỢC ĐĂNG KÝ BẢO HỘ TẠI VIỆT NAM

STT	Tên sáng chế (kèm số sáng chế)	Tác giả
1	Phân tử ADN tái tổ hợp có nguồn gốc từ sự kiện chuyển gen C4-52-1 và cây ngô chuyển gen chịu hạn chứa phân tử này (2-0002070-000)	Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Xuân Thắng, Đoàn Thị Bích Thảo.
2	Quy trình khảo nghiệm giống lúa bằng kỹ thuật sinh học phân tử (2-0001899-000)	Lưu Minh Cúc
3	Phương pháp làm tăng mùi thơm cho cây lúa chuyển gen (1-0008180-000)	Somvong Tragoonrung, Theerayut Toojinda, Samart Wachana, Wintai Kamolsukyonyong, Apichart Vanavichit
4	ADN chứa gen đặc hiệu bao phấn lúa và cây chuyển gen được biến nạp với gen này (1-0004743-000)	Jeon, Jong-Seong, Chung, Yong-Yoon, Lee, Sichul, An, Gynheung
5	Cây đậu tương, bộ phận của cây đậu tương hoặc tế bào cây đậu tương và phương pháp sản xuất tế bào thực vật chuyển gen (1-0033274-000)	Sastry-Dent, Lakshmi; Sriram, Shreedharan; Cao, Zehui; Camper, Debra L; Webb, Steven R
6	Phân tử ADN tái tổ hợp có nguồn gốc từ sự kiện chuyển gen 17053, cây lúa và phương pháp tạo ra cây lúa chuyển gen chịu được thuốc diệt cỏ glyphosat (1-0018954-000)	Qi, Youlin Hubmeier, Christopher, HOI, Sio-Wai.
7	Phương pháp chỉnh sửa ADN hệ gen ở cây ngô (1-0041005-000)	Kelliher, Timothy; Que, Qideng
8	Cặp đoạn mồi PCR-Mo và các đoạn mồi LAMP-Mo để phát hiện nấm Magnaporthe oryzae gây bệnh đạo ôn trên lúa (1-0041733-000)	Nguyễn Bảo Quốc, Nguyễn Ngọc Bảo Châu
9	Chủng vi khuẩn nội sinh rễ lúa Bacillus Velezensis VY03 có hoạt tính đối kháng phổ rộng với vi sinh vật gây bệnh thực vật để ứng dụng trong kiểm soát sinh học (2-0003298-000)	Đinh Thúy Hằng, Nguyễn Duy Tới, Nguyễn Thị Hiếu Thu, Nguyễn Kim Nữ Thảo
10	Đoạn trình tự khởi động phân lập từ gen lúa (Oryza sativa) biểu hiện đặc hiệu ở nhụy và bao phấn của bông lúa, vectơ tái tổ hợp biểu hiện và cây chuyển gen chứa vectơ này (VN 1-2024-02364)	Đặng Thị Thùy Dương, Trần Tuấn Anh, Đỗ Tiến Phát, Tô Thị Mai Hương

11	Đoạn trình tự khởi động cảm ứng với stress và biểu hiện đặc hiệu ở hệ rễ phân lập từ gen lúa, vectơ tái tổ hợp biểu hiện và cây chuyển gen chứa vectơ này (VN 1-2021-07672)	Tô Thị Mai Hương, Tạ Anh Sơn
12	Chủng vi khuẩn <i>Bacillus thuringiensis</i> serovar canadensis SP14.2 thuần khiết về mặt sinh học mang gen mã hóa protein độc tố Cry2Ab39 diệt sâu đục quả đậu tương (VN 1-2020-06575)	Trịnh Thị Thu Hà, Lê Thị Minh Thành, Ngô Đình Bính, Chu Hoàng Hà, Phạm Bích Ngọc, Lê Thu Ngọc
13	Gen Bph30 ở cây lúa kháng rầy nâu và chỉ thị phân tử S7 liên kết với nó (VN 1-2020-05831)	Cao Lệ Quyên, Phạm Xuân Hội, Nguyễn Duy Phương
14	Phân tử ADN tái tổ hợp có nguồn gốc từ sự kiện chuyển gen C4-52-1 và cây ngô chuyển gen chịu hạn chứa phân tử này (VN 2-2018-00238)	Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Xuân Thắng, Đoàn Thị Bích Thảo
15	Cặp mồi phát hiện giống lúa Nàng Thơm Chợ Đào (VN 1-2021-04819)	Tô Thị Mai Hương, Tạ Anh Sơn
16	gARN trong cấu trúc biểu hiện dùng để chỉnh sửa promoter OsWEET14 và quy trình chuyển cấu trúc CRISPR/Cas9 mang trình tự gARN vào giống lúa Bắc thơm 7 (VN 1-2020-05831)	Cao Lệ Quyên, Phạm Xuân Hội, Nguyễn Duy Phương.
17	Chủng vi khuẩn <i>Bacillus thuringiensis</i> serovar aizawai Đ6.1 thuần khiết về mặt sinh học mang gen mã hóa protein độc tố Cry2Ah1 diệt sâu đục quả đậu tương (VN 2-2020-00573)	Trịnh Thị Thu Hà, Lê Thị Minh Thành, Ngô Đình Bính, Đông Văn Quyền
18	Quy trình tạo mô sẹo phôi hóa (FEC) ở các giống sản thương mại của Việt Nam (VN 1-2018-00303)	Lê Huy Hàm, Vũ Anh Thu, Nguyễn Anh Vũ, Tống Thị Hường, Nguyễn Văn Đồng.
19	Gen chịu hạn của cây ngô, quy trình chuyển gen chịu hạn vào cây ngô và cây ngô thu được từ quy trình này (VN 2-2015-00391)	Đoàn Thị Bích Thảo, Nguyễn Văn Trường, Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Xuân Thắng, Huỳnh Thị Thu Huệ, Ngô Thị Minh Tâm, Nông Văn Hải.
20	Chủng vi khuẩn <i>Bacillus thuringiensis</i> TH19 phân lập từ đất rừng Thanh Hóa sinh có khả năng sinh protein độc diệt sâu đục quả đậu tương (VN 2-2022-00023)	Nguyễn Văn Đồng, Đinh Thúy Hằng, Lê Thị Thu Hiền, Phạm Lê Bích Hằng.

Phụ lục 3

MỘT SỐ DOANH NGHIỆP CUNG ỨNG THIẾT BỊ CÔNG NGHỆ SINH HỌC PHỤC VỤ CHỌN TẠO GIỐNG CÂY LƯƠNG THỰC TẠI VIỆT NAM

STT	Tên doanh nghiệp	Địa chỉ
1	Công ty TNHH B.C.E Việt Nam	Địa chỉ: 49/3 Hoàng Dư Khương, Phường 12, Quận 10, TP.HCM
2	Công ty Cổ phần Công nghệ TBR	Địa chỉ: 553 Hương Lộ 2, Phường Bình Trị Đông, Quận Bình Tân, TP.HCM
3	Công ty TNHH BIO Nông Lâm	Địa chỉ: 428/5 Quốc lộ 1A, KP2 Phường Tam Bình, Thủ Đức, TP.HCM
4	Công ty TNHH Nông nghiệp VACO	Địa chỉ: 87/55A Nguyễn Sĩ Sách, Phường 15, Quận Tân Bình, TP.HCM
5	Công ty TNHH MTV Nana Farm	Địa chỉ: 22/5C2 KP. Bình Đáng, Phường Bình Hòa, Thuận An, Bình Dương
6	Công ty TNHH Thiết bị Khoa học Kỹ thuật An Dương	Địa chỉ: Tòa nhà An Phú Plaza 117 - 119 Lý Chính Thắng. Phường 7, Quận 3, TP.HCM
7	Công ty TNHH Khoa học Hợp Nhất	Địa chỉ: 83/10 Bạch Đằng, Phường 2, Quận Tân Bình, TP.HCM
8	Công ty TNHH Công nghệ Sinh học Thực vật	Địa chỉ: 199/4B Thạnh Xuân 52, P. Thạnh Xuân, Quận 12, TP.HCM
9	Công ty TNHH Dịch thuật sáng chế PROINVEN	Địa chỉ: Tổ 2, ngõ 2 Cầu Bươu, đường Phan Trọng Tuệ, xã Tả Thanh Oai, huyện Thanh Trì, TP. Hà Nội
10	Công ty Cổ phần Tập đoàn ThaiBinh Seed	Địa chỉ: 36 Quang Trung, Trần Hưng, Thái Bình