

Chương 3

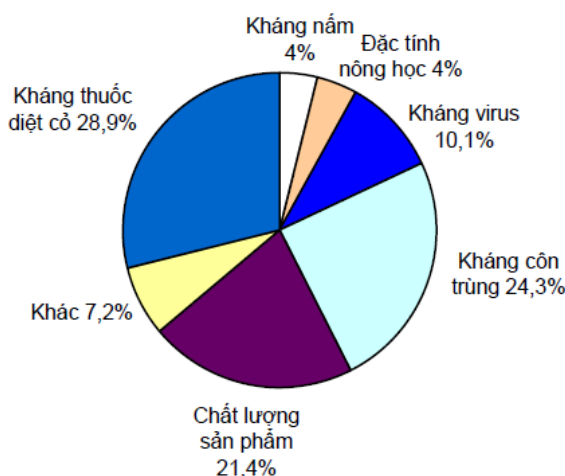
THÀNH TỰU CỦA CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO VỆ THỰC VẬT NN405-3

Mục tiêu: giúp sinh viên biết về các thành tựu của công nghệ sinh học trong BVTV

Trong hơn thập kỷ qua, nhờ thành tựu to lớn của công nghệ gen, người ta đã chuyển thành công những gen phân lập từ sinh vật này vào những sinh vật khác để tạo ra cơ thể biến đổi gen mang các đặc tính mong muốn. Sản phẩm biến đổi gen đang đem lại những lợi nhuận kinh tế khổng lồ cho nhiều quốc gia. Ở Mỹ, hiện nay có tới 1.300 công ty Công nghệ sinh học với doanh thu hàng năm đạt khoảng 12,7 tỷ đô la. Trong số các sản phẩm tạo ra (có liên quan đến biến đổi gen), sản phẩm y dược chiếm tới 75%, trong khi sản phẩm nông nghiệp chỉ chiếm 3%. Tuy nhiên, sự đầu tư mở rộng quy mô nghiên cứu và khai thác sản phẩm nông nghiệp biến đổi gen ngày càng tăng.

Năm 1996, toàn thế giới chỉ có 1,7 triệu ha trồng cây biến đổi gen, nhưng đến năm 2004 diện tích cây trồng biến đổi gen toàn cầu tăng lên gần 48 lần, đạt tới 81 triệu ha, trong đó hơn 1/3 diện tích này là ở các nước đang phát triển. Hiện nay, có khoảng 20 quốc gia sản xuất cây trồng biến đổi gen với diện tích từ 50.000 ha trở lên. Mỹ là quốc gia hàng đầu trồng cây biến đổi gen với diện tích trong năm 2004 là 47,6 triệu ha (chiếm 59%). Tiếp đến là Argentina: 16,2 triệu ha (20%), Canada: 5,4 triệu ha (6,7%), Brazil: 5 triệu ha (6%), Trung Quốc: 3,7 triệu ha (4,6%). Ở châu Á, cây trồng biến đổi gen chủ yếu là bông, được trồng nhiều ở Trung Quốc, Ấn Độ, Philippines và Indonesia (trích từ Trần Thị Lệ, 2006).

Có 4 loại cây trồng biến đổi gen được thương mại hóa mạnh nhất. Đó là: đậu tương kháng thuốc diệt cỏ đạt diện tích 48,4 triệu ha (chiếm 60% tổng diện tích cây trồng biến đổi gen năm 2004), ngô kháng thuốc diệt cỏ và kháng sâu đạt diện tích 19,3 triệu ha (chiếm 24%), bông kháng thuốc diệt cỏ và kháng sâu đạt diện tích 9 triệu ha (chiếm 11%) và cải dầu kháng thuốc diệt cỏ đạt diện tích 4,3 triệu ha (chiếm 5%). Nếu so sánh diện tích trồng cây biến đổi gen với tổng diện tích cây trồng cùng loại ở quy mô toàn cầu thì đậu tương biến đổi gen chiếm 56%, bông biến đổi gen chiếm 28%, cải dầu biến đổi gen chiếm 19% và ngô biến đổi gen chiếm 14%. Ngoài 4 loại cây trồng biến đổi gen chính đã được thương mại hóa rộng rãi nói trên, còn có hàng loạt các cây trồng biến đổi gen khác như kháng nấm, kháng virus, chín chậm... cũng đã và đang được phổ biến (trích từ Trần Thị Lệ, 2006).



Hình 3.1. Tỷ lệ (%) của các loại cây biến đổi gen được đưa vào sản xuất.

Thực vật biến đổi gen đã mang lại những đặc tính tốt cho cây trồng. Cho đến nay gen được chuyển vào thực vật nhiều nhất là gen kháng thuốc diệt cỏ và kháng côn trùng. Vì vậy, đã làm giảm một lượng đáng kể thuốc diệt cỏ và trừ sâu được sử dụng trong nông nghiệp.

3.1. Cây trồng kháng thuốc diệt cỏ

Trong sản xuất nông nghiệp có tính chuyên môn hóa cao thì việc sử dụng các loại thuốc diệt cỏ đại là điều rất cần thiết nhằm đảm bảo năng suất cây trồng. Tuy nhiên, việc lạm dụng một số thuốc diệt cỏ có độc tính cao đã và đang gây ra các hậu quả nghiêm trọng đối với môi trường, hệ sinh thái và sức khỏe con người. Gần đây, người ta đã tổng hợp được một số hợp chất chỉ tồn tại trong tự nhiên một thời gian ngắn, nhưng lại tiêu diệt toàn bộ cây cối. Các hợp chất này được gọi là thuốc diệt cỏ không chọn lọc.

Bằng phương pháp sử dụng đột biến, người ta đã phân lập được một số gen tạo cho cây trồng có khả năng kháng các loại thuốc diệt cỏ nói trên. Việc chuyển các gen này vào cây đã nâng cao tính chọn lọc và hiệu quả kinh tế của thuốc diệt cỏ cũng như làm giảm ảnh hưởng của thuốc đối với quần thể sinh vật trong đất. Thật vậy, khi chưa có loại cây trồng biến đổi gen kháng thuốc không chọn lọc, người ta phải phun nhiều lần trước khi gieo hạt nhằm loại bỏ hoàn toàn mầm mống cỏ dại. Nhưng khi người nông dân gieo trồng loại cây biến đổi gen thì họ đợi cho cây trồng và cỏ dại cùng phát triển đến một mức độ nhất định, sẽ tiến hành phun thuốc một lần là có thể đảm bảo loại bỏ sự xâm lấn của cỏ dại. Đồng thời việc phun thuốc khi mà cây trồng đã phát triển sẽ làm giảm thuốc diệt cỏ thấm vào đất, làm giảm nguy cơ gây hại đối với môi trường.

Kháng thuốc diệt cỏ nhân tạo là đặc điểm thường được sử dụng nhiều nhất cho đến nay ở thực vật biến đổi gen.

Điều này có nhiều nguyên nhân:

- Thứ nhất là tạo ra thực vật biến đổi gen loại này tương đối đơn giản.
- Thứ hai, cỏ dại là một vấn đề lớn nhất trong nông nghiệp, làm giảm năng suất từ 10-15%.

Về cơ bản phân biệt loại thuốc diệt cỏ chọn lọc với loại không chọn lọc. Ở liều lượng nhất định loại kháng chọn lọc có tác dụng đối với thực vật có đặc điểm sinh lý và hình thái nhất định. Ví dụ: thuốc nhóm này gồm có: atrazin, bromoxynil, 2,4-D. Tác dụng của thuốc diệt cỏ chọn lọc:

Atrazin: Làm ngừng sự vận chuyển điện tử trong hệ thống quang hóa II ở lục lạp (cần thiết đối với quang hợp của thực vật). Ngô không mẫn cảm với atrazin.

Bromoxynil: Đình chỉ sự vận chuyển điện tử trong hệ thống quang hóa II của lục lạp, làm chết cây hai lá mầm.

Glyphosate (Round up^R): Làm ngừng hoạt động enzyme EPSP-synthase và qua đó kìm hãm sự tổng hợp các amino acid thơm.

Phosphinothricin (PPT) còn gọi là **Basta**: PPT là đồng phân dạng L của sản phẩm tổng hợp glufosinate. PPT có cấu trúc tương tự glutamic acid, gắn không thuận nghịch với enzyme glutamyl synthase, gây độc do tích lũy NH₃.

2,4-D: Auxin tổng hợp này gây hại cho sự phát triển của cây hai lá mầm, phần lớn cây một lá mầm không mẫn cảm.

Một số loại thuốc diệt cỏ chọn lọc tồn tại lâu trong đất, vì vậy nó làm nhiễm nguồn nước.

Ngược lại, thuốc diệt cỏ không chọn lọc như glyphosate hoặc phosphinothricin (PPT) độc đối với tất cả cây trồng.

Ưu điểm của hai loại thuốc diệt cỏ này là phân giải rất nhanh trong đất thành những chất không hại.

Thời gian bán hủy của Basta trong đất chỉ 10 ngày và Round up từ 3 đến 60 ngày. Thời gian bán hủy là khoảng thời gian mà 50% chất này bị biến đổi và phân giải.

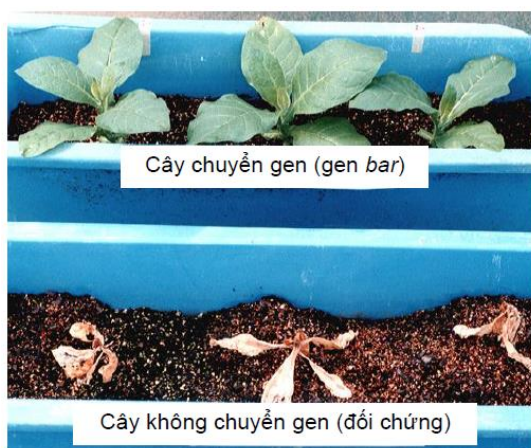
Để sản xuất cây chuyển gen kháng thuốc diệt cỏ, người ta cần những gen kháng mã hóa cho protein, những protein này hoặc làm bất hoạt thuốc diệt cỏ, hoặc thay đổi vị trí tác động của thuốc trong tế bào, làm thuốc không còn gây hại. Cơ chế kháng thuốc diệt cỏ không chọn lọc Basta và glyphosate được giải thích như sau:

Basta là thuốc diệt cỏ không chọn lọc được sử dụng trong hơn 50 quốc gia, nhưng được sử dụng rất có giới hạn, vì nó gây độc ở cây trồng và cỏ dại như nhau. Gần đây, rất nhiều loại cây trồng biến đổi gen được tạo nên và đã được thử nghiệm trong hơn 100 thí nghiệm đồng ruộng, trong đó nhiều loại đã được đưa ra thị trường. Những gen kháng được phân lập từ vi sinh vật hoặc từ thực vật kháng trong tự nhiên. Từ cây linh lăng thảo (*Medicago sativa*) một gen không mẫn cảm với Basta được phân lập và từ vi khuẩn đất *Streptomyces hygroscopicus* và *S. viridochromogenes* 2 gen *bar* và *pat* được phân lập, những gen này mã hóa cho enzyme phosphinothricin-acetyltransferase. Enzyme này làm mất độc tính của thuốc bằng acetyl hóa, gắn vào một gốc acetyl. Để sử dụng cho thực vật, những gen từ vi khuẩn được biến đổi và được điều khiển bởi promoter CaMV 35S nhằm đạt được sự biểu hiện gen thường xuyên trong tất cả các mô. Bằng cách này cây linh lăng thảo, cà chua, ngô, lúa, lúa mì và đậu tương kháng thuốc diệt cỏ được tạo nên.

Thuốc diệt cỏ glyphosate đình chỉ đặc hiệu enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate-synthase (EPSP-synthase). Đây là enzyme cần thiết trong thực vật để tổng hợp amino acid thơm (phenylalanin, tryptophan và tyrosin), một số vitamin và các hợp chất có nguồn gốc thứ cấp. Enzyme này không có ở người và động vật, vì vậy glyphosate không độc đối với người. Glyphosate được phân giải trong đất nhờ vi sinh vật và không để lại sản phẩm độc hại nào.

Kháng glyphosate có thể do những cơ chế khác nhau:

- Thứ nhất trong cây có sự biểu hiện mạnh mẽ của enzyme của EPSP-synthase dưới sự điều khiển của promoter CaMV-35S và đồng thời tạo nên một enzyme oxidoreductase của vi khuẩn. Nhờ enzyme oxidoreductase mà thuốc bị bất hoạt và với một lượng lớn EPSP-synthase được tạo nên thì lượng thuốc còn lại không thể gây hại ở cây biến đổi gen (Hình 3.2). Ở đây 2 gen cần thiết, trong đó gen oxidoreductase là không có trong thực vật.



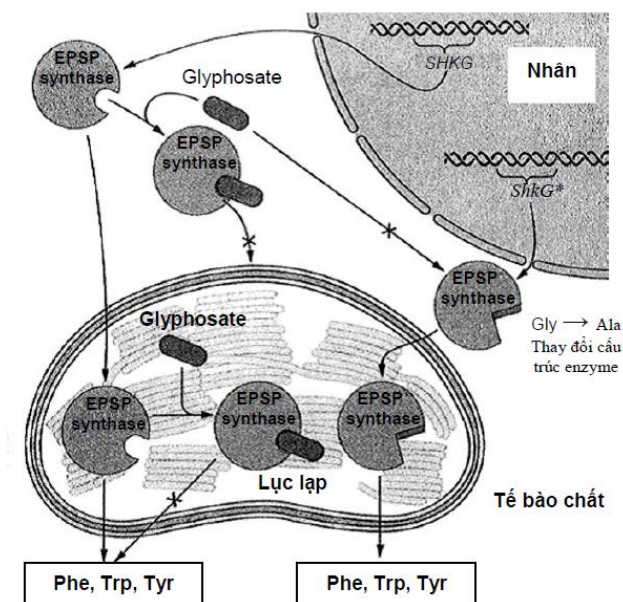
Hình 3.2. Hiệu quả kháng thuốc diệt cỏ sau 15 ngày phun thuốc.

Một khả năng thứ hai là sử dụng EPSP-synthase của vi khuẩn. Từ vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* (loài CP4), EPSP-synthase vi khuẩn được phân lập và do sự thay đổi trình tự amino acid nên enzyme này không còn mẫn cảm với glyphosate và vì vậy được sử dụng trong nhiều cây trồng thương mại.

Thứ ba là xuất hiện một dạng đột biến EPSP-synthase của cây trồng có khả năng kháng glyphosate (Hình 3.3).

Tính kháng không chọn lọc được sử dụng đối với nhiều cây trồng biến đổi gen, như cây bông, khoai tây, ngô, đậu tương, thuốc lá và lúa mì.

Bằng việc sử dụng cây trồng kháng thuốc diệt cỏ, lượng thuốc diệt cỏ được sử dụng giảm đi đáng kể, vì thuốc được dùng theo yêu cầu và trong phạm vi nhỏ hơn.



Hình 3.3. Đột biến xảy ra trong EPSP-synthase làm cho cây kháng thuốc diệt cỏ glyphosate. Sự kết hợp của glyphosate vào enzyme EPSP-synthase ở loại hình bình thường đã làm mất hoạt tính xúc tác và hạn chế sự di chuyển của enzyme này vào lục lạp. Dạng EPSP*-synthase (mã hóa bởi *ShkG**-dạng đột biến) có hoạt tính thấp với glyphosate và vẫn thể hiện hoạt tính khi có mặt của thuốc diệt cỏ này.

Năm 1996 và 1997 ở Mỹ, khi sử dụng cây kháng thuốc diệt cỏ đã làm giảm lượng thuốc dùng tương ứng là 26% và 22%. Rửa trôi đất giảm 90%, do đất không phải cày sâu, đồng thời năng suất tăng lên 5%.

Một vấn đề khó khăn trong việc sử dụng cây biến đổi gen là sự lan truyền tính kháng qua hạt phấn đến những cây họ hàng. Để giải quyết vấn đề này việc tạo cây biến đổi gen là dựa vào sự thay đổi các gen trong lục thể. Vì gen lục thể ở phần lớn thực vật di truyền theo tế bào chất, vì vậy tính kháng thuốc diệt cỏ không thể lan truyền được qua hạt phấn.

EPSP-synthase hoạt động ở trong lục thể. Nhưng gen mã hóa cho enzyme này lại có mặt ở trong nhân. Protein được dịch mã ở ribosome trong tế bào chất và do có trình tự đích của lục thể nên được vận chuyển vào cơ quan tử này. Cây thuốc lá kháng glyphosate đã được tạo nên bằng cách biến nạp gen mã hóa cho EPSP-synthase có nguồn gốc từ cây dã yên thảo. Gen này được chèn vào DNA của lục thể. Lục thể cũng có ribosome nên tổng hợp trực tiếp EPSP-synthase. Bằng cách này việc vận chuyển gen qua hạt phấn ở phần lớn cây trồng đã không xảy ra.

3.2. Kháng côn trùng gây hại

Các tổn thất trước thu hoạch gây ra bởi các loại sâu phá hoại là một trong các nguyên nhân chủ yếu làm giảm năng suất cây trồng, đặc biệt là ở các nước nhiệt đới có nhiệt độ cao, ẩm độ lớn, thích hợp cho sự phát triển sâu bệnh như ở nước ta.

Côn trùng gây hại cây trồng ở hai khía cạnh:

- Thứ nhất là gián tiếp truyền các tác nhân gây bệnh khác như virus, vi khuẩn hoặc nấm.
- Thứ hai là trực tiếp ăn hại các cơ quan của cây trồng.

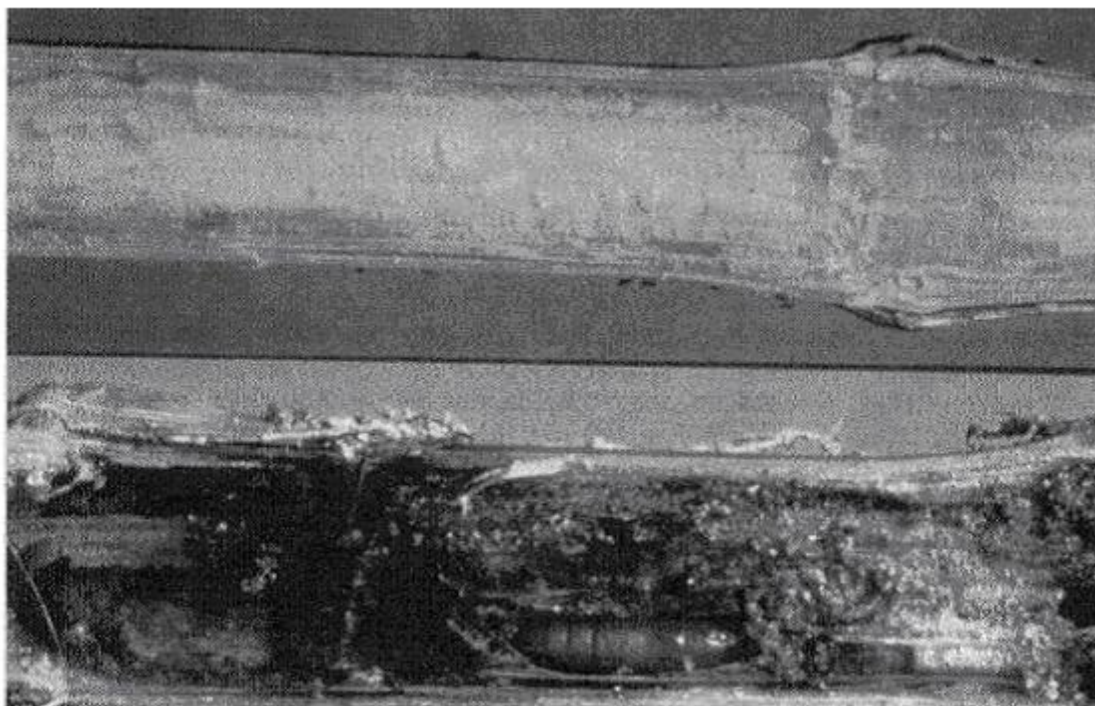
Biện pháp hữu hiệu được sử dụng rộng rãi hiện nay là phun thuốc trừ sâu hóa học. Việc sử dụng thuốc trừ sâu làm ảnh hưởng đến môi trường sinh thái, do dư lượng còn lại tích lũy trong chuỗi thức ăn và mặt khác thuốc trừ sâu gây độc không đặc hiệu đối với tất cả động vật. Vì vậy, sự phát triển những cây trồng chuyển gen kháng sâu có ý nghĩa lớn.

Ở đây đề cập đến một loại toxin tự nhiên, được tạo ra trong vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* và chỉ gây hại ở một số loài côn trùng nhất định, không hại đối với các động vật khác và con người. Toxin này được gọi là Bt-toxin.

B. thuringiensis là một vi khuẩn đất tạo bào tử. Ở quá trình tạo bào tử xuất hiện những vỏ tinh thể chứa -endotoxin. Ở các loài *B. thuringiensis* khác nhau người ta đã xác định được hơn 100 loại toxin khác nhau, là những protein với khối lượng phân tử khoảng 130 kDa. Trong ruột côn trùng -endotoxin được biến đổi thành dạng độc tố hoạt động và tích lũy trong tế bào thượng bì ruột. Việc tạo bào tử trong màng dẫn đến sự phân giải thẩm thấu những tế bào này và làm cho côn trùng chết.

Trong nông nghiệp sinh thái vi khuẩn *B. thuringiensis* được phun trực tiếp trên đồng ruộng. Tuy nhiên, đối với một số cây trồng, việc phun thuốc trừ sâu Bt đôi khi ít hiệu quả do đặc tính hình thái của cây trồng tại thời điểm cần phun thuốc. Ví dụ: đối với cây ngô loại côn trùng phá hoại chính là sâu đục thân *Ostrinia nubilalis*. Để phòng trừ loại sâu này, người ta phun thuốc vào thời điểm sâu bắt đầu nở. Nhưng do đặc tính khí hậu ở một số vùng, thời điểm sâu bắt đầu nở rơi đúng vào lúc cây đã phát triển. Điều này ngăn cản thuốc trừ sâu Bt đi tới các mô, các bộ phận mà sâu đục thân phá hoại. Mặt khác, thuốc trừ sâu Bt rất dễ phân hủy trong môi trường tự nhiên, đặc biệt dưới ánh sáng mặt trời chứa nhiều tia cực tím. Do vậy, ở những vùng thích hợp cho sự phát triển của sâu đục thân, khiến cho thời kỳ sinh sản của sâu kéo dài, người nông dân phải phun thuốc nhiều lần rất tốn kém.

Bắt nguồn từ các hạn chế của việc phun thuốc trừ sâu Bt, các nhà khoa học đã chuyển gen Bt vào nhiều loại cây trồng. Lúc này, cây chuyển gen Bt có khả năng sinh tổng hợp trực tiếp loại thuốc trừ sâu sinh học. Điều này giúp cho việc phòng trừ trở nên hiệu quả hơn và giảm chi phí mua thuốc trừ sâu cho người nông dân.



Hình 3.4. Cây ngô biến đổi gen, tạo ra Bt-endotoxin (phía trên) và cây ngô bình thường bị nhiễm sâu hại (phía dưới).

Gen mã hóa cho Bt-toxin được biến đổi cho phù hợp với thực vật, được đưa vào các cây trồng khác nhau như bông, ngô, khoai tây và cà chua chuyển gen đang được sản xuất thương mại biểu hiện độc tố của Bt để tạo ra tính kháng đối với các côn trùng loại nhai-nghiền (chewing insects). Vi khuẩn *B. thuringensis* tổng hợp các protein - endotoxin tinh thể được mã hóa bởi các gen *Cry*.

Người ta phân biệt 4 nhóm endotoxin (CryI đến CryIV), tùy thuộc nó độc với loài sâu nào, đối với *Lepidoptere* (bướm, CryI), *Lepidoptere* và *Diptere* (ruồi và muỗi, CryII), *Coledoptere* (côn trùng cánh cứng, Cry III) và *Diptere* (Cry IV).

Sau nhiều thí nghiệm đồng ruộng các loại cây trồng chứa gen *Bt* đã có mặt trên thị trường với kết quả tốt. Ví dụ: với việc sử dụng ngô chứa gen *Bt* năm 1996 và 1997 đã làm giảm lượng thuốc trừ sâu cho cây ngô ở Mỹ 10%, năng suất tăng lên 9%, bông chứa gen *Bt* năng suất tăng 7%. 60% nông dân loại bỏ hoàn toàn thuốc trừ sâu.

Một số ưu điểm của độc tố Bt như sau :

- Tính đặc hiệu, mỗi protein Cry chỉ hoạt động chống lại một hoặc một vài loài côn trùng.
- Sự đa dạng, nhiều protein Cry khác nhau đã được nhận biết.
- Các ảnh hưởng không bất lợi hoặc bị giảm đã được xác nhận trên các côn trùng không phải đích hoặc các địch thủ tự nhiên của côn trùng.
- Độc tính với động vật có vú là rất thấp.
- Có thể thoái biến dễ dàng.

Kết quả nghiên cứu cho thấy điểm mấu chốt là gen chịu trách nhiệm tổng hợp protein tinh thể trừ sâu của vi khuẩn *B. thuringensis* chủng *kurstaki*, chưa đặc biệt biểu hiện rõ ở cây trồng. Để nâng cao hiệu quả của độc tố, các nhà nghiên cứu đã cắt gọt bớt

gen chỉ để tổng hợp phần protein có hoạt tính chứa độc tố mà không cần các phần gen phụ khác. Gen *Cry* được cắt bớt đã biểu hiện tổng hợp protein gấp 500 lần so với gen nguyên thủy. Hiện nay, hơn 40 gen khác nhau mang tính kháng côn trùng đã được hợp nhất trong cây trồng chuyển gen với một vài giống đã được thương mại hóa ở các nước như Mỹ, Úc...

Lợi ích của các độc tố Bt trong kiểm soát côn trùng đã buộc chúng ta phải có các phương thức quản lý khác nhau để làm chậm sự phát triển của tính kháng của côn trùng đối với Bt, bao gồm :

- Bố trí các vùng bên cạnh trồng cây bông không chuyển gen Bt, làm nơi trú ẩn để giảm áp lực chọn lọc hướng tới việc kháng côn trùng.
- Triển khai các gen kháng côn trùng khác nhau (Ví dụ: protease inhibitors).
- Dùng các loại độc tố Bt cho các receptor đích khác nhau.
- Dùng các promoter khác nhau để điều chỉnh sự biểu hiện của các gen Bt.
- Dùng các promoter đặc trưng mô (tissue-specific promoter), như thế côn trùng có thể ăn mà không tổn hại đến kinh tế trên các bộ phận ít quan trọng của thực vật.
- Có các hướng khác để phát triển tính kháng côn trùng cho cây chuyển gen dựa trên cơ sở: protease inhibitors, -amylase, lectins, chitinases, cholesterol oxidase, các virus của côn trùng được tạo dòng, tryptophan decarboxylase, anti-chymotrypsin, bovine pancreatic trypsin inhibitor và nhân tố ức chế lá lách.

Dĩ nhiên là Bt-toxin không độc cho tất cả mọi côn trùng và trong tự nhiên luôn có khả năng xuất hiện những loài sâu kháng. Vì vậy, phải có chiến lược tiếp tục tạo ra những loại cây trồng kháng.

Đặc biệt hứa hẹn là chất ức chế serin-protease, kìm hãm các enzyme tiêu hóa quan trọng của côn trùng. Những cây trồng chứa một lượng lớn protein này có tác dụng bảo vệ trước sự phá hoại của sâu hại.

Ngoài ra, nhiều phương pháp khác cũng được thử nghiệm. Về nguyên tắc các phương pháp này dựa trên việc sử dụng những protein có trong tự nhiên đặc hiệu chỉ gây hại cho côn trùng. Điều này đặc biệt có ý nghĩa ở trong cây lương thực và thực phẩm vì nó không chứa những chất độc gây hại cho người tiêu dùng.

3.3. Kháng virus gây bệnh

Tương tự như vi khuẩn, động vật và người; ở thực vật cũng tồn tại một số lượng lớn virus. Ngoài ra, ở thực vật còn có thể được gọi là viroide.

Virus chứa một vỏ protein và trong đó có cả màng lipid. Vật chất di truyền của virus là DNA hoặc RNA. Viroide không có vỏ protein và màng mà chỉ có phân tử RNA ở dạng vòng nhỏ. Sự tái sinh virus và viroide hoàn toàn phụ thuộc vào trao đổi chất của ký chủ. Theo quy ước quốc tế tên của virus được gọi theo tên thực vật đầu tiên mà loại virus đó được tìm ra, sau đó đến triệu chứng đầu tiên và thêm từ virus (ví dụ: thuốc lá khảm-virus: tobacco-mosaic-virus). Virus thực vật cần sinh vật khác để truyền từ cây này sang cây khác. Ở đây phần lớn là nhờ côn trùng, và khi chúng mang virus được gọi là vector.

Virus thường được coi là tác nhân gây bệnh nguy hiểm. Tuy nhiên, quan niệm này không hoàn toàn chính xác, vì khi phân tích từng phần hệ gen thực vật cho thấy, trong cây trồng và cây hoang dại tồn tại số lượng lớn các loại virus, trong chúng phần

lớn là không gây hại. Ngoài ra, virus ở thực vật không phải là virus ở người và động vật. Chỉ có một số loài virus gây thiệt hại lớn cho mùa màng. Ví dụ loài virus tạo ra nhiều rễ nhỏ ở củ cải đường trong một số vùng lớn ở Đức đã gây thiệt hại đến 75%.

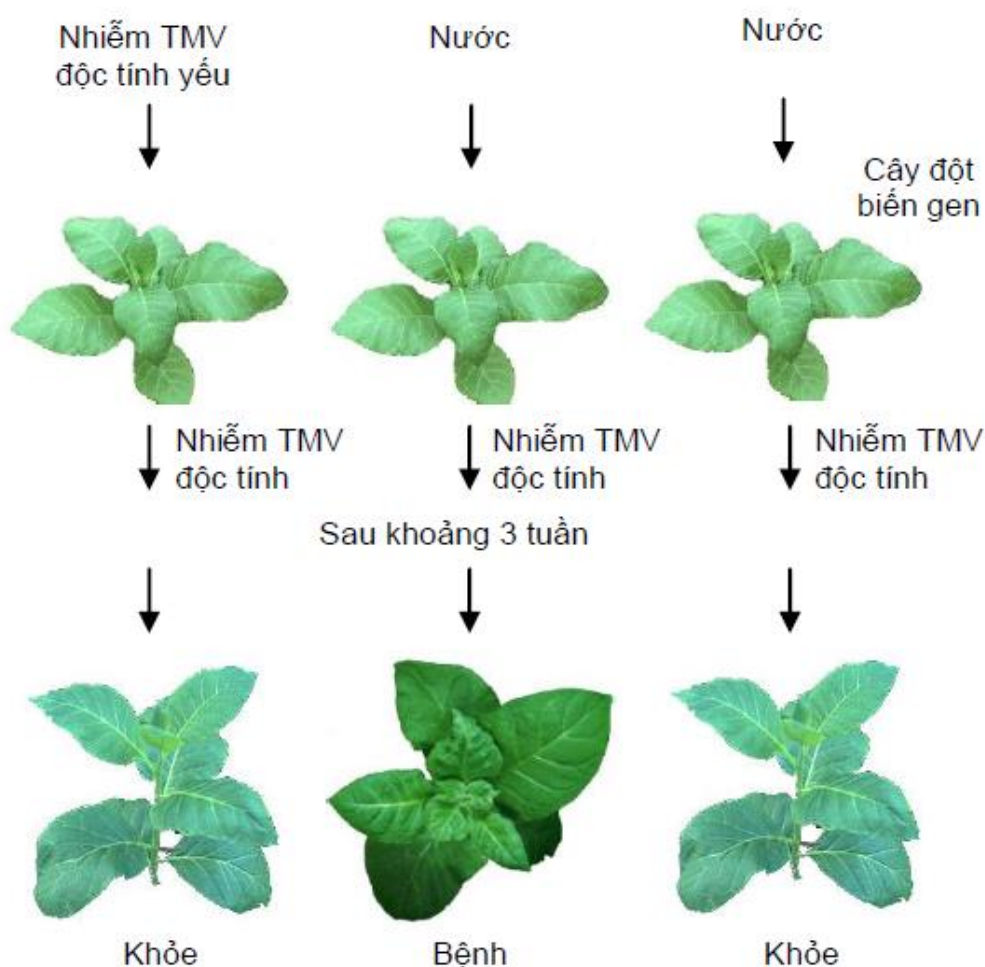
Triệu chứng ở thực vật sau khi virus xâm nhiễm (thay đổi màu, dạng và chết) rất đa dạng và phụ thuộc vào các yếu tố môi trường. Ngược lại, virus thực vật có cấu tạo đơn giản, vì chúng gồm một vỏ protein đơn giản và bên trong vỏ này chứa nucleic acid mang những gen khác nhau.

Phần lớn virus chứa những gen mã hóa cho vỏ protein, cho sao chép thông tin di truyền của nó (từ DNA hoặc RNA) và một gen cho sự di chuyển bên trong thực vật từ tế bào này đến tế bào khác.

Thường tồn tại những chủng virus họ hàng với mức độ gây bệnh khác nhau. Có những chủng không gây triệu chứng, có độc tính thấp, trong khi đó có những chủng gây triệu chứng hại rất nặng, được gọi là virus có độc tính cao. Đã lâu người ta biết rằng, nếu tiêm chủng trước đó với loài virus độc tính yếu thì ở trong cây xuất hiện tính miễn dịch đối với loài virus họ hàng độc tính mạnh hơn. Sự tái sinh của virus bị ngừng hoặc là giảm rất mạnh, được gọi là bảo vệ chéo (cross protection) (Hình 3.5).

Người ta lợi dụng hiệu quả trên để tạo cây biến đổi gen kháng virus. Đầu tiên những gen mã hóa cho protein vỏ của virus được đưa vào thực vật và biểu hiện dưới sự điều khiển của promoter CaMV 35S. Thực tế cho thấy những cây này sau khi nhiễm virus không xuất hiện triệu chứng. Theo cơ chế này những tính kháng cơ bản với nhiều loại virus khác nhau được tạo nên.

Nhiều phương thức được sử dụng để kiểm soát sự xâm nhiễm virus bao gồm các xử lý hóa học để giết các vector virus, chuyển vào cây trồng các gen kháng tự nhiên từ các loài liên quan, sử dụng các phương pháp chẩn đoán hiện đại như PCR và đưa ra những chỉ dẫn thích hợp để đảm bảo nhân giống các vật liệu khởi đầu sạch virus (ví dụ: hạt, củ...).



Hình 3.5. Thí nghiệm về bảo vệ chéo. Bên trái: Cây thuốc lá được xử lý với TMV yếu, sau đó được lây nhiễm với TMV độc tính và kết quả là cây không gây bệnh. Ở giữa: Cây thuốc lá không được xử lý với TMV yếu, xuất hiện triệu chứng bệnh sau khi xử lý với TMV độc tính. Bên phải: Cây biến đổi gen, chứa các gen mã hóa cho protein vỏ của TMV, kháng được sự lây nhiễm

Tuy nhiên, phương pháp chủ yếu để khắc phục tình trạng trên là khai thác tính kháng xuất phát từ các tác nhân gây bệnh. Chẳng hạn, sử dụng các trình tự có nguồn gốc từ virus được biểu hiện trong các cây chuyển gen để tạo ra tính kháng đối với các virus thực vật. Hướng này dựa trên cơ sở các nghiên cứu về sự gây nhiễm (inoculation) hay xâm nhiễm (infection) ở thực vật, được khởi đầu với các chủng virus nhẹ tạo ra khả năng bảo vệ chống lại sự gây nhiễm tiếp theo với cùng chủng virus hoặc các virus có liên quan gần gũi. Tính kháng bắt nguồn từ tác nhân gây bệnh như vậy cần sự biến nạp thực vật với các trình tự có nguồn gốc từ virus. Tính kháng vật chủ xuất hiện từ hai cơ chế khác nhau: (1) Sự bảo vệ được dàn xếp thông qua biểu hiện của các protein virus tự nhiên hoặc đã được biến đổi (ví dụ: protein vỏ, replicase, và replicase khiếm khuyết). (2) Sự bảo vệ được dàn xếp ở mức độ phiên mã (RNA-mediated resistance), đòi hỏi sự phiên mã của RNA hoặc từ các trình tự hoàn chỉnh hoặc từng phần có nguồn gốc từ virus đích (bao gồm các gen cho protein vỏ, replicase, replicase khiếm khuyết, protease, protein vận động...).

Một đường hướng khác tạo ra cây trồng kháng là dựa trên việc sử dụng những gen kháng (các gen R) tồn tại ở một số thực vật tự nhiên. Những gen kháng này đã xuất